



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**ESTUDIOS GENÉTICOS EN GENOTIPOS DE AGROPIRO ALARGADO CRECIENDO  
BAJO CONDICIONES HALOMÓRFICAS**

**ING. AGR. (Mg) MARIELA LUCIANA ACUÑA**

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

**DIRECTOR: ING. AGR. (PhD., Mg) ADRIANA NOEMI ANDRÉS**

**CO- DIRECTOR: Dra. KARINA ALEJANDRA GRUNBERG**

**AÑO: 2019**

**ESTUDIOS GENÉTICOS EN GENOTIPOS DE AGROPIRO ALARGADO CRECIENDO  
BAJO CONDICIONES HALOMÓRFICAS**

Mariela Luciana Acuña

Ingeniera Agrónoma-Universidad de Buenos Aires (UBA)

Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria de Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, durante el periodo comprendido entre marzo 2013 hasta diciembre 2018, bajo la dirección de la Dra. Adriana Noemí Andrés.

Doctorando

Director

Co-Director

## AGRADECIMIENTOS

---

Agradezco al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por brindarme la posibilidad de realizar este estudio de posgrado.

A la Dra. Adriana Andrés, por aceptar dirigirme y brindarme todos los medios necesarios para desarrollar el presente estudio, por su apoyo, conocimiento y enseñanza en esta etapa.

A la Dra. Karina Grunberg por aceptar co-dirigirme y brindarme junto al equipo del IFGR-CIAP los medios y conocimientos necesarios para realizar los parámetros fisiológicos desarrollados en el presente estudio, en especial al Ing. Exequiel Tommasino por su tiempo y conocimiento, a la Dra. Mariana Quiroga y a las ayudantes Daniela y Paola.

Al Grupo de Forrajeras de la EEA Pergamino, a todos aquellos que de una u otra manera me ayudaron. En especial a Javier, Nelson, Eduardo, Juan Carlos, Catalina, Sergio. Al Laboratorio de Biotecnología y de Suelos pertenecientes al Laboratorio Regional del CRBAN, en especial a las ayudantes Viviana Decker, Daniela Lopez Miró y Mg Leticia García. Al Centro Documental de la EEA INTA Pergamino por su valioso aporte en las búsquedas bibliográficas realizadas.

A los Ings. Alejo Ré, Julio Velzaco, Erika Mroginski y Raquel Defacio por ayudarme en cada una de mis dudas. A las Ings Beatriz Rosso y Susana Pistorale, por compartir sus conocimientos en la especie y brindarme su apoyo durante esta etapa.

A la Universidad Nacional del Noroeste de la Pcia de Buenos Aires, por tesinistas, comisiones de estudio y ayudantes que colaboraron, en especial a Eliano y Marcelino. A la escuela Agrotécnica “Lorenzo Parodi”, por las horas de prácticas brindadas por sus estudiantes.

A Lolita e Ivanita, por hacer el aguante cada vez que hizo falta, por estar siempre, gracias! A mis amigos Marian, Matt, Gaby, Vicky y Piti por estar siempre a pesar de la distancia, de lo mejor que me dio la universidad, los quiero! A Ale, mi gran amiga, gracias! A Marian, por estar siempre acompañando con tu paz! A Estelita, gracias por cuidar siempre de mis hijos con tanto amor.

A mi Familia, en especial a Mamá y Papá, por apoyarme siempre e incondicionalmente, en este o cualquiera de mis proyectos. Gracias por estar, por cuidar a mis hijos para que pueda terminar de escribir, gracias por todo, los amo.

A mi esposo, gracias por ayudarme y alentarme, te amo. A mis hijos que son lo más importante en mi vida, gracias por apoyarme y entender el tiempo que debía dedicarle a la tesis, por acompañarme a los ensayos, por estar siempre, los amo hijos.

# DEDICATORIA

*A mi esposo Tomás y mis hijos Timoteo☀, Josefina♥ y Tomás😊*

## PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

1. **Acuña**, M.L., Grunberg, K., Andrés, A.N. Selección de genotipos de *Thinopyrum ponticum* por tolerancia y productividad en ambientes halomórficos. 41° Congreso de la Asoc. Argentina de Producción Animal. 16 al 19 de Octubre 2018, Mar del Plata.
2. Veliz, S.; Lavandera, J.; Fioravanti, N.; **Acuña**, M. Fenotipificación de agropiro alargado con comportamiento contrastante a condiciones halomorficas. CONGRESO MULTIDISCIPLINARIO DE LA UNNOBA: ciencia, innovación, y sociedad. 19 al 21 de abril de 2018, UNNOBA, Junín, Pcia. Buenos Aires, Argentina.  
<http://congresos.unnoba.edu.ar/ocs/index.php/CM2018/CM2018>
3. **Acuña**, ML; Maciel, MA; Decker, V; Pistorale, S; Grunberg, K; Andrés, AN. Determinación de la diversidad genética en una población de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) a través de microsatélites 46° Congreso Argentino de Genética. 1 al 4 de Octubre de 2017. San Fernando del Valle de Catamarca, Catamarca, Argentina
4. **Acuña**, M., Veliz, S., Lavandera, J., Grunberg, K., Andrés, A. Parámetros genéticos y respuesta a la selección en caracteres vegetativos en *Thinopyrum ponticum*. 41 Congreso AAPA 06 al 09 de noviembre de 2017. Córdoba, Pcia Córdoba, Argentina.
5. Veliz, S., Lavandera, J., Fioravanti, N., Andrés, A., **Acuña**, M.L. Fenotipificación de *Thinopyrum ponticum* para condiciones halomórficas. 41 Congreso AAPA 06 al 09 de noviembre de 2017. Córdoba, Pcia Córdoba, Argentina.
6. Maciel, MA; **Acuña**, ML; Decker, V; Andrés, AN; Pistorale, S. Caracterización molecular de agropiro alargado con diferente respuesta a la salinidad. XVI CONGRESO LATINOAMERICANO DE GENÉTICA – ALAG del 09 al 12 de octubre de 2016 – Montevideo, Uruguay
7. Andrés, A; **Acuña**, M; Re A; Mattera J; Lavandera J; Palacios N. XVII Reunión Anual de Forrajeras. 23/08/16. ¿Cómo aumentar la producción forrajera en los sistemas mixtos?: “Logros y avances en mejoramiento genético y evaluación de raigrás anual y festuca alta”.
8. **Acuña**, M L; Varea, I; Maciel, M.; Lavandera, J; Andrés, A. Mejoramiento genético para ambientes ganaderos: agropiro alargado y trébol de olor blanco. RAF XVI “Opciones Forrajeras para Ambientes Ganaderos” 04/08/2016.

9. **Acuña, M.**; Varea, I; Maciel, M.; Affinito, A.; Palacios, N.; Andrés. A Mejoramiento genético de agropiro alargado, festuca alta, Lotus tenuis y Melilotus albus. Jornada “Cómo mejorar la producción forrajera en suelos afectados por sales ” ISBN: 978-987-46433-0-8. pág 21-28. 60pp. Diciembre 2016
10. **Acuña, M**; Grunberg, K; Andrés, A. Evaluación agronómica de agropiro alargado en sustratos halomorficos. Revista de Tecnología Agropecuaria ISSN 0238-7750. Vol.10, n° 29, pp: 43-46. Buenos Aires, Argentina. Diciembre, 2015.
11. **Acuña, M**, Grunberg, K., Andrés, A. Dry matter production and K/Na in *Thinopyrum ponticum* growing in halomorphic conditions in hydroponic system. International Symposium of Forage Breeding del 19 al 21 de Octubre de 2015. CABA
12. Lavandera, J., Gandolfi Donadío, E., Andrés, A., **Acuña, M**. Dry matter production in a naturalized population of wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*). International Symposium of Forage Breeding del 19 al 21 de Octubre de 2015. CABA
13. Barrett, F.M.; **Acuña, M.L**; Andrés, A.N, Camarasa, J.N. Quality parameters of *Thinopyrum ponticum* "tall wheatgrass" under conditions halomorphic. International Symposium of Forage Breeding del 19 al 21 de Octubre de 2015. CABA
14. **Acuña, M.L.**, Gandolfi Donadío, E, Lavandera, J., Fioravanti, N., Novarese, C., Andrés, A. “Caracterización de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado en caracteres de producción de semilla”. 38° Congreso de la Asoc. Argentina de Producción del 23 al 25 de octubre de 2015. Santa Rosa, La Pampa.
15. Pistorale, S; Balestro, L; Oses, C; Maciel, M y **Acuña, M**. Caracterización de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado en caracteres de producción de semilla. XLIV Congreso Argentino de Genética y V Reunión Regional SAG. Mar del Plata de 13 al 16 de septiembre de 2015
16. **Acuña, M.**; Affinito, A.; Maciel, M.; Diaz Paleo, A.; Andrés, A. El Mejoramiento Genético de Agropiro Alargado y Lotus Tenuis. En XV REUNIÓN ANUAL DE FORRAJERAS : “La ganadería competitiva en campo mixto”. 19/08/2015, EEA INTA Pergamino.
17. **Acuña, M.L.**, Barrett, F., Pistorale, S.M., Cattoni, M.I., Camarasa, J., Grunberg, K., Andrés, A.N. Evaluación de la producción y la calidad de forraje de *Thinopyrum ponticum* en diferentes sustratos salinos". 37° Congreso Argentino de Producción Animal. 2nd Joint Meeting American Society of Animal Science. Asociación Argentina de Producción Animal. XXXIX Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal.

Pontificia Universidad Católica Argentina, 20 al 22 de octubre de 2014-C.A.B.A, Argentina.

18. Pistorale, SM; **Acuña**, M.L; Andrés, A.N. Evaluación de familias de medio-hermanos de agropiro alargado mediante parámetros productivos. XLIII CONGRESO ARGENTINO DE GENÉTICA IV Reunión Regional SAG- 19 y el 22 de octubre de 2014, La Pampa-Patagonia.
19. **Acuña**, ML, Grunberg, K, Andrés, AN. Evaluación agronómica de genotipos de agropiro alargado en diferentes sustratos salinos. III CONGRESO DE LA RED ARGENTINA DE SALINIDAD. CHASCOMUS ABRIL 2014
20. Pistorale, S; Maciel, M; Andrés, A; **Acuña**, M. Heredabilidad de caracteres morfológicos relacionados a la producción de materia seca en agropiro alargado. XLII Congreso Argentino de Genética y III Reunión Regional SAG-NOA. 20-23 Octubre 2013

## ÍNDICE

---

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS .....	I
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT .....	VI
CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	2
1. Halomorfismo, efecto de las sales en suelo y planta.....	3
1.1 Importancia de la salinidad en el suelo.....	3
1.2 Efecto de la salinidad en las plantas.....	5
1.3 La tolerancia a la salinidad en plantas.....	7
1.4 La genética tolerancia a la salinidad en plantas.....	9
2. El mejoramiento genético de la tolerancia a la salinidad .....	9
2.1 Variabilidad genética para tolerancia a salinidad .....	10
2.2 Herramientas que asisten a la selección .....	11
2.2.1 Caracteres agronómicos.....	11
2.2.2 Caracteres fisiológicos.....	13
2.2.3 Marcadores moleculares.....	14
3. La especie bajo estudio: <i>Thinopyrum ponticum</i> (Podp.) Barworth et Dewey.....	15
3.1 Aspectos generales de la especie .....	15
3.2 Aspectos genéticos de la especie.....	18
3.3 Estudios sobre tolerancia a salinidad en la especie.....	19
4. Mejoramiento genético de la especie.....	21
HIPOTESIS Y OBJETIVOS .....	23
CAPITULO II.....	24
VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO DE <i>THINOPYRUM PONTICUM</i> .....	24
INTRODUCCIÓN.....	25
1. Variabilidad Genética.....	25
2. Marcadores morfológicos y moleculares.....	26
HIPOTESIS Y OBJETIVOS .....	28
MATERIALES Y METODOS.....	29
1. La población estudiada .....	29



2. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico.....	29
2.1 Siembra y clonación .....	30
2.3 Trasplante y disposición a campo.....	30
2.3 Caracteres evaluados.....	32
2.4 Análisis de la información .....	35
2.4.1 Análisis de variancia entre genotipos .....	35
2.4.3 Estimación del grado de determinación genética (GDG).....	36
2.4.4 Estimación de la correlación fenotípica .....	37
2.4.5 Análisis Multivariado .....	37
3. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular.....	38
3.1. Puesta a punto de la extracción y amplificación de ADN .....	38
3.1.1.Extracción de ADN.....	39
3.1.2.Cuantificación y Dilución de ADN.....	41
3.1.3.Amplificación del ADN .....	41
3.1.4.Preparado de vidrios, corrida, tinción y revelado.....	46
3.2. Análisis estadístico de los resultados .....	46
3.2.1.Matriz Básica de Datos (MBD).....	47
3.2.2.Matriz de distancia genética.....	47
3.2.3.Análisis Multivariados .....	47
3.2.3.1. Análisis de Ordenamientos. Análisis de Coordenadas Principales .....	48
3.2.3.2. Análisis de Agrupamiento. Análisis de Cluster.....	48
3.2.3.3. Coeficiente de Correlación Cofenética.....	48
4. Análisis conjunto de la Caracterización Agronómica y la Caracterización Molecular .....	48
RESULTADOS .....	50
1. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico.....	50
1.1. Caracteres evaluados.....	50
1.2. Estimación de los componentes de la variancia .....	56
1.3. Correlaciones fenotípicas .....	57
1.4. Análisis Multivariado.....	58
1.4.1.Componentes Principales .....	58
1.4.2.Análisis de Conglomerados .....	60
2. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular.....	63
2.1.Extracción y cuantificación de ADN .....	63
2.2.Amplificación del ADN .....	63

2.3.Productos Amplificados .....	64
2.4.Análisis Multivariado .....	67
2.4.1.Análisis de Ordenamientos. Análisis de Coordenadas Principales .....	67
2.4.2.Análisis de Agrupamiento. Análisis de Cluster .....	68
3. Análisis conjunto de la caracterización morfológica y molecular .....	70
3.1. Análisis de Procrustes generalizados .....	70
DISCUSIÓN.....	72
1.Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico.....	72
2.Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular.....	75
3.Análisis conjunto de la caracterización morfológica y molecular .....	76
CONCLUSIONES .....	77
CAPITULO III.....	78
COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN CRECIENDO EN CONDICIONES HALOMÓRFICAS EN HIDROPONIA.....	78
INTRODUCCIÓN.....	79
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	83
MATERIALES Y MÉTODOS.....	84
1.La población estudiada.....	84
2.Acondicionamiento en invernáculo, siembra y diseño aplicado.....	84
2.1 Diseño experimental.....	84
2.2 El sustrato y las soluciones .....	84
2.3 Inicio del experimento.....	84
2.4 Caracteres evaluados.....	87
3.Análisis de la información .....	90
3.1 Análisis de variancia entre genotipos .....	90
3.1.1 Estimación de componentes de variancia por ambiente .....	91
3.1.2 Estimación de la correlación fenotípica por ambiente .....	92
4.Análisis Multivariado .....	92
4.1 Análisis Multiambiental a través de AMMI .....	93
5.Plasticidad fenotípica .....	94
RESULTADOS .....	96
1.Efecto del halomorfismo en los genotipos: caracteres morfológicos y fisiológicos .....	96
2.Efecto del halomorfismo en los genotipos: estimación de la correlación fenotípica entre caracteres por tratamiento.....	110
3.Efecto del halomorfismo en los genotipos: diversos análisis multivariados .....	111

3.1 Componentes Principales .....	111
3.2 Análisis de Conglomerados .....	111
4. Análisis de la interacción genotipo ambiente para la producción de materia seca acumulada (PMSA) en los cuatro ambientes. Modelos AMMI .....	113
4.1 AMMI II .....	113
4.2 AMMI I .....	115
4.3 Índice de tolerancia .....	116
5. Efecto del halomorfismo en los genotipos: estimación de los componentes de la variancia y Grado de determinación genética. ....	119
DISCUSIÓN .....	123
1. El comportamiento de la población en halomorfismo .....	123
2. El comportamiento de los genotipos a los ambientes halomórficos .....	124
CONCLUSIONES .....	127
CAPITULO IV .....	128
COMPORTAMIENTO DE FAMILIAS DE MEDIO HERMANOS CRECIENDO EN CONDICIONES HALOMORFICAS EN HIDROPONIA .....	128
INTRODUCCIÓN .....	129
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	131
MATERIALES Y MÉTODOS .....	132
1. Las familias de medio hermanos (FMH) estudiadas .....	132
2. Acondicionamiento en invernáculo, siembra y diseño aplicado .....	132
2.1 Diseño experimental .....	132
2.2 El sustrato y las soluciones (ambientes) .....	132
2.3 Inicio del experimento .....	135
3. Caracteres evaluados .....	136
4. Análisis de variancia entre y dentro de FMH .....	139
4.1 Estimación de componentes de variancia por ambiente .....	140
4.2 Estimación de la heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) por ambiente .....	140
RESULTADOS .....	143
1. Efecto del halomorfismo en las FMH: Caracteres Morfológicos .....	143
2. Efecto del halomorfismo en las FMH: Caracteres Fisiológicos .....	157
2.1 Acumulación de iones: $Ca^+$ , $Mg^+$ , $K^+$ , $Na^+$ y $K^+/Na^+$ .....	157
2.2 Determinación de CRA, MDA y FRAP .....	161
2.3 Índice de Tolerancia (IT) .....	164

3. Efecto del halomorfismo en las FMH: estimación de los componentes de la variancia y Heredabilidad en sentido estricto.....	169
DISCUSIÓN.....	173
1. El agrupamiento de las familias y su comportamiento en halomorfismo.....	173
2. Estimación de los parámetros genéticos.....	175
CONCLUSIONES.....	176
CAPITULO V.....	177
COMPORTAMIENTO AGRONOMICO DE LAS FAMILIAS SELECCIONADAS.....	177
INTRODUCCIÓN.....	178
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	180
MATERIALES Y METODOS.....	181
1.Las familias de medio hermanos estudiadas.....	181
2.Siembra y trasplante a campo.....	181
2.1 Diseño experimental.....	181
2.2 Caracteres evaluados.....	182
3.Análisis de la información.....	184
3.1 Análisis de variancia entre FMH.....	185
3.2 Estimaciones de los componentes de la variancia.....	186
4.Estimación de la heredabilidad en sentido estricto.....	186
5.Análisis Multivariado.....	187
RESULTADOS.....	188
1.Comportamiento de las FMH a campo: Caracteres agronómicos.....	188
2.Análisis Multivariado.....	192
2.1 Componentes Principales.....	192
2.2 Análisis de Conglomerados.....	193
3.Comportamiento de las FMH a campo: Heredabilidad en sentido estricto.....	194
DISCUSIÓN.....	196
CONCLUSIONES.....	199
CONCLUSIONES FINALES.....	200
BIBLIOGRAFIA.....	203
ANEXO.....	243

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

---

ADN: ácido desoxirribonucleico

ANOVA: análisis de varianza

ARN: ácido ribonucleico

CE: conductividad eléctrica

Cl<sub>2</sub>Na: cloruro de magnesio

cm: centímetro

cm<sup>2</sup>: centímetro cuadrado

cm<sup>3</sup>: centímetro cúbico

CTAB: bromuro de cetiltrimetilamonio

CV: coeficiente de variación

D.E.: desvío estándar

d: días

dds: días desde la siembra

dNTPs: desoxirribonucleótidos

dS: decisiemens

E.E.: Error estándar

EDTA: ácido etilen diamino tetracético

EST: Sitios de Secuencias Expresadas

g: gramo

h: hora

ha: hectáreas

HPLC: cromatografía líquida de alta eficiencia

INASE: Instituto Nacional de Semillas

µg: microgramo

µl: microlitro

µmol: micromol

m: metro

M: molar

Máx: Máximo

meq: miliequivalente

mg: miligramo

Mín: mínimo

min: minuto

ml: mililitro

mM: mili molar

mm: milímetro

mmhos: milimhos

NaCl: cloruro de sodio

ng: nanogramo

ng: nanogramo

pb: pares de bases

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PF: Peso Fresco

pH: potencial de hidrógeno

PS: Peso seco

RAPD: ADN Polimórfico Amplificado al Azar

RFLP: Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción

rpm: revoluciones por minuto

seg: segundo

TAE: tris, ácido acético, EDTA

TBE: tris, ácido bórico, EDTA

TE: tris-EDTA

uM: micromolar

UPGMA: medias aritmética no ponderada

UV: ultravioleta

## RESUMEN

Los suelos afectados por la salinidad se encuentran ampliamente distribuidos a nivel mundial y Argentina es el tercer país que presenta suelos con problemas de halomorfismo. Adicionalmente la creciente expansión agrícola en áreas no tradicionales, desplazó a la ganadería hacia suelos restrictivos con problemas de salinidad y sodicidad. El agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) es una de las especies forrajeras perennes con mayor adaptación a este tipo de ambientes, pero su productividad es afectada por el tipo de suelo halomórfico en el que crece. El objetivo de la presente tesis fue analizar fenotípica y genéticamente el crecimiento de genotipos y familias de medio hermanos (FMH) de agropiro alargado en condiciones halomórficas. Para esto se condujeron cuatro experimentos. El primero estudió la variabilidad genética de la población naturalizada a nivel morfológico y molecular; el segundo y tercer experimento estudiaron la respuesta al halomorfismo en hidroponía simulando distintos tipos de suelo (control, salino, sódico, salino-sódico) a nivel poblacional y a nivel de familias de medio hermanos, a través de variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. El cuarto experimento estudió el comportamiento agronómico de las familias tolerantes a campo. Se estimó el Índice de tolerancia relativo de los genotipos y las familias (IT) a los estreses ambientales, se estimó la relación  $K^+/Na^+$  y se aplicó AMMI, para seleccionar los de mejor y peor comportamiento en halomorfismo. En todos los estudios se estimaron los componentes de varianza fenotípica y la heredabilidad en sentido amplio y en sentido estricto en los diferentes ambientes. Los resultados obtenidos en el primer experimento detectaron una importante variabilidad fenotípica y genética dentro de la población a nivel molecular y a nivel morfológico en caracteres de interés agronómico a campo. Los estudios de halomorfismo en hidroponía (experimentos 3 y 4) detectaron una respuesta diferencial de la población (genotipos) y de las familias a los ambientes impuestos, que permitió agruparlos en tolerantes y susceptibles. El ambiente salino-sódico fue el que mayor reducción del crecimiento produjo en los genotipos y en las FMH. La variabilidad fenotípica observada en la población expresó un elevado componente plástico heredable. Las familias mostraron un componente genético aditivo elevado aplicable para seleccionar por ambiente halomórfico. La producción de materia seca, el índice de tolerancia y la relación  $K^+/Na^+$ , fueron variables indicadoras de tolerancia aplicables como criterios de selección en programas de mejoramiento de la especie. Los resultados obtenidos en el último experimento a campo, detectaron un muy buen comportamiento agronómico, en producción de forraje y de semilla de las familias seleccionadas como tolerantes.



En términos generales la presente tesis doctoral generó conocimientos y aportó germoplasma utilizable en futuros programas de selección y obtención de cultivares de agropiro alargado tolerantes al halomorfismo que resulten productivamente útiles en diferentes sistemas ganaderos de la Argentina.

## ABSTRACT

Soils affected by salinity are widely distributed worldwide and Argentina is the third country with halomorphism problems soils. In addition, the agricultural expansion in non-traditional areas displaced livestock to restrictive soils with problems of salinity and sodicity. Tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*) is one of the most adapted perennial forage species to this type of environment. The aim of this thesis work was to analyze phenotypically and genetically the growth of genotypes of a population and half-sib families of Tall wheatgrass under halomorphic conditions. For this, four experiments were performed. The first one studied the genetic variability at morphological and molecular level within the naturalized population; the second and third experiments studied the growth of genotypes and families in simulated hydroponic soils (control, saline, sodic, saline-sodic), through morpho-physiological and biochemical characters. The fourth experiment studied the agronomic behavior of tolerant families in the field. The Relative Tolerance Index, the  $K^+/Na^+$  ratio and AMMI were used to select tolerant genotypes and families. In all the studies the phenotypic variance and the broad and narrow sense heritability were estimated at each environment. The results in the first experiment detected an important phenotypic and genetic variability within the population at molecular and morphological level. Experiments 3 and 4 detected significant genotypes and families halomorphic soils interactions, that allowed to grouped them into tolerant and susceptible. The sodium saline soil was the most restricted environment for genotypes and family growth. The population showed high significant plastic component and the families showed additive genetic component to select in halomorphism. Dry matter production, tolerance index and  $K^+/Na^+$  ratio were all tolerance variables to be used in breeding programs. The tolerant families showed an outstanding agronomic performance at the field. This thesis contributed to increase the knowledge of Tall wheatgrass tolerance under halomorphic soil conditions.

# **CAPITULO I**

---

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

## INTRODUCCIÓN GENERAL

---

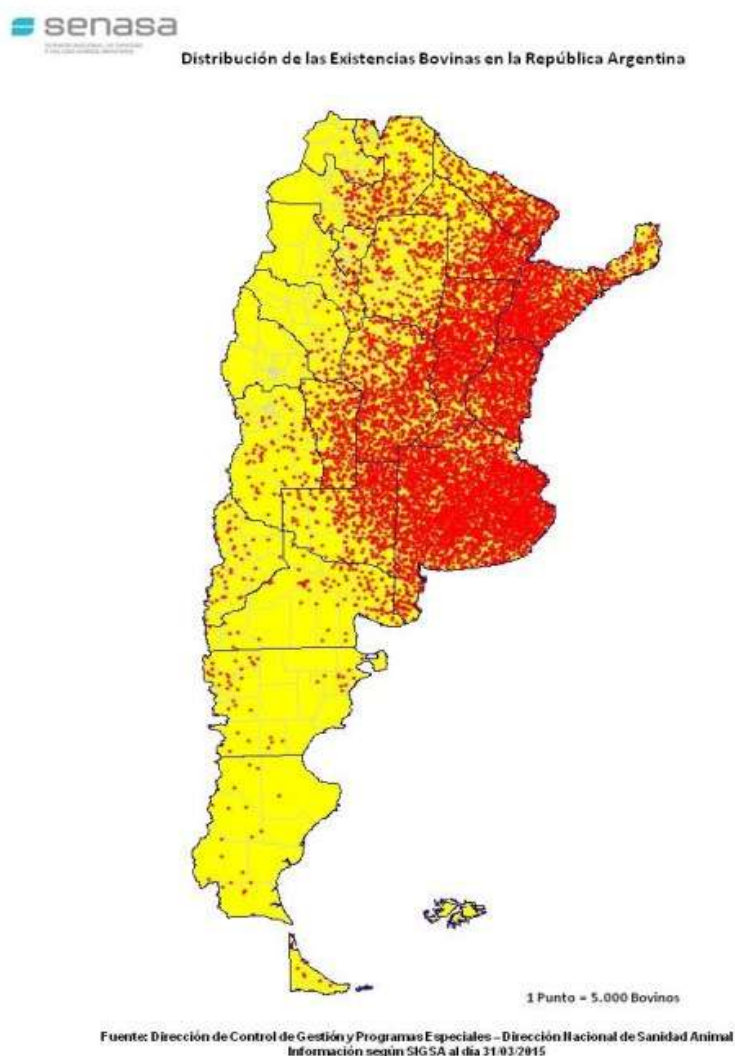
Las pasturas cultivadas son uno de los componentes principales en la alimentación de la ganadería argentina, la cual en los últimos años fue reordenada en ambientes de menor potencial productivo por efecto de la expansión agrícola. La densidad ganadera del país registra las mayores concentraciones de hacienda en las provincias de Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos y Santa Fé (Rearte, 2007). A pesar del reordenamiento, la región pampeana cuenta con la mayor existencia de bovinos (Canosa *et al.*, 2013), gran parte concentrada en ambientes predominantemente ganaderos, caracterizados por suelos halomórficos, bajo condiciones de anegamiento, estrés hídrico y térmico en determinados períodos del año (Figura 1.1).

En general la mayor superficie de suelos salinos y alcalinos se distribuye principalmente en la planicie Chaco Pampeana, el sureste de Córdoba y este de Santa Fe, los bajos Submeridionales en Pcia Santa Fe, el oeste pampeano y la Depresión del Salado en Pcia. de Buenos Aires (Imbellone *et al.*, 2010). La Provincia de Buenos Aires, tiene aproximadamente unos 30.000.000 ha de las cuales el 60% son destinadas a ganadería (MAA, 2010) por ser consideradas marginales para la agricultura, asimismo de estas, unas 15.000.000 ha se ubican en la Cuenca del Rio Salado (Rearte, 2007). En términos generales los campos bajos salinos–alcalinos, con problemas de drenaje, muestran una baja productividad de forraje del orden de 2 t MS/ha.año (Scheneiter, 2008). Esta situación ha promovido una mayor demanda de tecnologías que respondan a una adecuada oferta de nutrientes para el ganado y sostengan elevados niveles productivos (Viglizzo *et al.*, 2010).

Las especies forrajeras nativas y/o naturalizadas son un recurso forrajero disponible y a menudo poco explorado en los ambientes salinos-alcalinos. Entre las gramíneas perennes más cultivadas en suelos con limitaciones en Argentina, se destaca el agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth et Dewey) caracterizada por su tolerancia a la salinidad (Dewey, 1960; Covas y Ballari, 1969; Shannon, 1985; Barker y Kalton, 1989; Majerus, 1996; Bleby *et al.*, 1997; García *et al.*, 2002; Casas, 2011; Jauregui *et al.*, 2017) y por su gran potencial como cultivo forrajero (Aello *et al.*, 1983; Gándara y Gómez, 1987; Laplace *et al.*, 1994; Borrajo *et al.*, 1998; Ricci *et al.*, 2009).

El desarrollo de germoplasma de agropiro alargado ha sido abordado a través de diversas investigaciones que permitieron detectar variabilidad genética en el comportamiento ante estrés halomórfico (Andrés, 2001, Pistorale *et al.*, 2005; Pistorale *et*

al., 2008; Bazzigalupi *et al.*, 2008; Bazzigalupi y Pistorale, 2009; Rosso y Andrés, 2009; Acuña *et al.*, 2009; Mansilla, 2012).



**Figura 1.1:** Distribución de las existencias bovinas en la República Argentina. *Fuente:* SENASA.

## 1. Halomorfismo, efecto de las sales en suelo y planta

### 1.1 Importancia de la salinidad en el suelo

Se denominan suelos halomórficos, aquellos suelos afectados por sales que interfieren con el crecimiento normal de las plantas. Estos se pueden dividir en salinos, salinos-sódicos y sódicos, según las cantidades de sal, el tipo de sales, la cantidad de sodio presente y la alcalinidad del suelo (Imbellone *et al.*, 2010; Lavado y Taboada, 2017). La salinidad se emplea como definición de suelos salinos y sódicos (Richards, 1954) y abarca

los problemas relacionados con altos niveles de sales solubles presentes en el suelo (Munns, 2004; Singh, 2006).

Un criterio que permite establecer rangos generales (Tabla 1.1) sobre los tipos de suelos afectados por sales (Richards, 1954) es el siguiente:

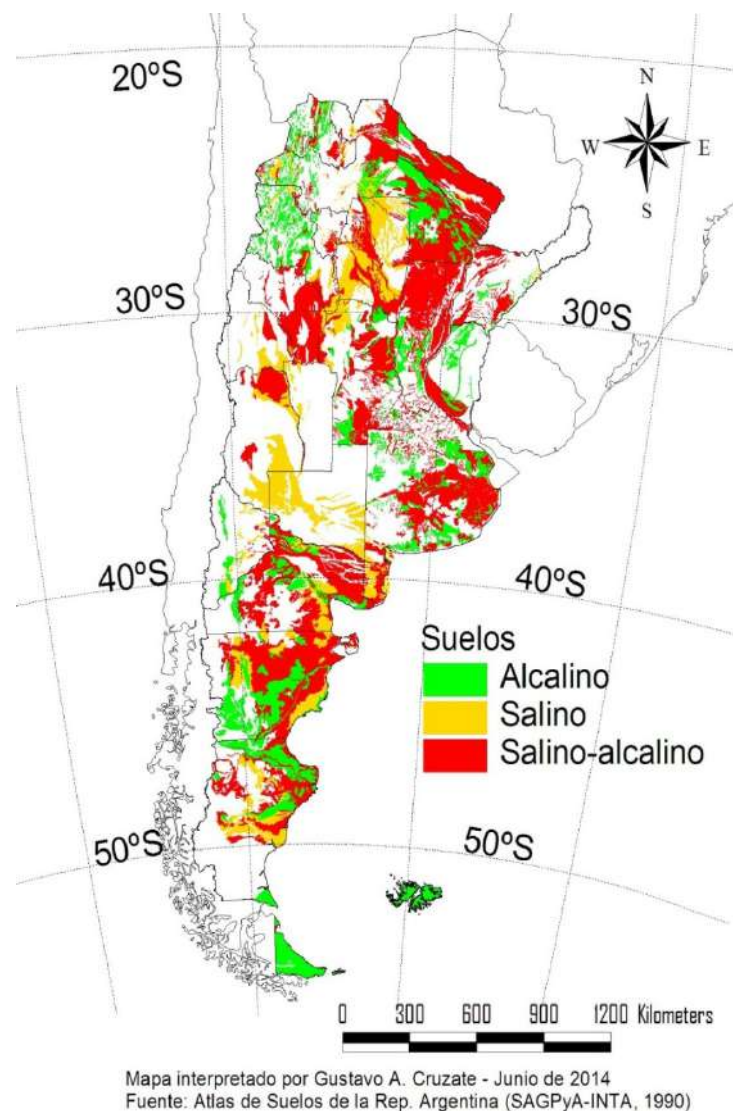
- Los suelos alcalinos o sódicos son aquellos que tienen suficiente porcentaje de sodio intercambiable (PSI) como para producir deterioro en las condiciones físicas del suelo y afectar los cultivos. El límite establecido es de 15 % de sodio intercambiable respecto a la capacidad de intercambio catiónico, presentan un pH elevado (mayor a 8,5) y una conductividad eléctrica menor a 4dS/m (mmhos/cm).
- Los suelos salinos son aquellos que tienen suficiente cantidad de sales solubles como para afectar el rendimiento de la mayoría de los cultivos. El límite establecido para tales suelos es una conductividad del extracto de la pasta saturada mayor a 4 dS/m, un pH menor a 8,5 y un PSI menor al 15%.
- Los suelos que alcanzan o superan ambos límites se conocen como suelos salino-sódicos.

**Tabla 1.1:** Clasificación de suelos afectados por sales, CE=Conductividad eléctrica. PSI= Porcentaje de sodio intercambiable.

Clasificación*	CE(dS/m)	pH	PSI
Salinos	>4	<8,5	<15
Sódicos	<4	>8,5	>15
Salinos-Sódicos	>4	>8,5	>15

\*Según el criterio del manual N°60 del USDA (Richards, 1954).

Algunas estimaciones indican que aproximadamente el 7% de la superficie mundial se encuentra afectada por salinidad o sodicidad (Szabolcs, 1994; Ghassemi *et al.*, 1995; Munns y Tester, 2008) y de esta superficie, 70 millones de ha son agrícolas (FAO, 2005). En Argentina, según FAO (2015), se estima que aproximadamente 85 millones de ha se encuentran afectadas por exceso de sales y sodio (Figura 1.2) y aproximadamente 19,5 millones de ha se localizan en la Región Pampeana de la República Argentina (Gorgas y Bustos, 2008).



**Figura 1.2:** Distribución de suelos afectados por exceso de sales en la República Argentina.

### 1.2 Efecto de la salinidad en las plantas

La salinidad o el exceso de sales en plantas implican cambios en diversos procesos fisiológicos y metabólicos (Munns y Termaat, 1986) y se denomina estrés salino. El efecto general de la salinidad es la reducción de la tasa de crecimiento dando como resultado hojas más pequeñas, estatura más baja y en ocasiones, menos hojas (Shannon y Grieve, 1999; Wang y Nil, 2000), también afecta los principales procesos como la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, el metabolismo energético y lipídico (Parida y Das, 2005).

El estrés ocurre como resultado de la acción combinada de varios factores que se manifiestan principalmente a través de la fisiología de la planta en un efecto osmótico, nutritivo y de toxicidad (Greenway y Munns, 1980). El efecto osmótico comienza

inmediatamente después de que la concentración de sales en la zona de las raíces se incrementa hasta determinados umbrales (Munns, 2005b; Munns y Tester, 2008) y el crecimiento cae significativamente. Es decir, el exceso de solutos en la solución del suelo produce una disminución del potencial osmótico, consecuentemente del potencial hídrico generando un efecto similar a la falta de agua en el suelo, de esta manera las células pierden turgencia, limitando la expansión celular acotando el crecimiento y provocando por último el marchitamiento de la planta (Munns y Tester, 2008; Alemán-Guillén, 2009; Talesnik *et al.*, 2009).

En cuanto a los desequilibrios nutricionales en la planta, ocurren como consecuencia del exceso de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  debido a que afectan la absorción y el transporte de otros nutrientes, como el  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^+$ , influyendo sobre la disponibilidad de los mismos y generando el desequilibrio nutricional (Hasegawa *et al.*, 2000, Munns 2002, Parida y Das 2005). Debido a su similitud química, el  $\text{Na}^+$  desplaza al  $\text{K}^+$  en sus funciones y disminuye la relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  del citoplasma afectando negativamente a los procesos metabólicos que dependen del  $\text{K}^+$ . Como consecuencia de esto, pueden darse situaciones de deficiencia de  $\text{K}^+$  (Botella *et al.*, 1997).

La etapa de toxicidad o ión específica, comienza cuando las sales se acumulan a concentraciones tóxicas en las hojas viejas (que ya no están en expansión y por lo tanto no diluyen la sal que llega a ellas como si lo hacen las hojas jóvenes en crecimiento), y se mueren (Munns y Tester, 2008). Si la tasa de acumulación es mayor que la tasa de producción de hojas nuevas, termina disminuyendo el área fotosintética lo que determina reducciones en la fotosíntesis neta, reduciendo su crecimiento (Munns, 2005a, 2005b; Parida y Das, 2005; Munns y Tester, 2008).

Otro efecto que surge debido a la acumulación excesiva de sales en los tejidos de la planta es el estrés oxidativo, el cual es de tipo bioquímico y se genera ante cualquier alteración de las condiciones óptimas de cultivo, incide de forma negativa en la fisiología de la planta, provocando una alteración de la cadena de transporte electrónico (Halliwell, 1987).

Entre los marcadores que indican el grado de daño oxidativo que están sufriendo las plantas en respuesta a un estrés, se destaca el malondialdehído (MDA); este es un subproducto de la peroxidación de lípidos de las membranas biológicas (Wong *et al.*, 1987). El aumento en su contenido es indicativo de un incremento del daño oxidativo (Gossett *et al.*, 1994; Dionisio-Sese y Tobita, 1998; Sudhakar *et al.*, 2001) y ha sido usado como un criterio eficiente para discriminar entre cultivares con respecto al grado de tolerancia al



estrés salino (Meloni *et al.*, 2003; Liang *et al.*, 2003; Brankova *et al.*, 2005; Ruiz *et al.*, 2005; Sairam *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2000, 2002; Lanza Castelli *et al.*, 2010, Ashraf *et al.*, 2010).

Estudios en especies forrajeras gramíneas mencionan el efecto de la salinidad en la restricción del crecimiento de las hojas, lo cual tiene un gran impacto en el rendimiento productivo de las mismas dado que la productividad está directamente relacionada con la expansión foliar y la duración (Taleisnik *et al.*, 2009). En *Chloris gayana* se observó una alta correlación entre la materia seca producida y la expansión foliar, evaluadas a través de un gradiente salino (de Luca *et al.*, 2001). Griffa *et al.*, (2010) determinaron en *Cenchrus ciliaris* que uno de los principales componentes rendimiento de materia seca fue la producción de peso fresco, el cual está directamente asociado con el área foliar (Gastal y Lemaire, 1988; Gastal *et al.*, 1992).

### **1.3 La tolerancia a la salinidad en plantas**

En plantas la tolerancia a la salinidad, se define como la habilidad de las plantas para crecer y completar su ciclo en un sustrato que contiene altas concentraciones solubles de sal (Parida y Das, 2005). Varios autores establecen que esa concentración debe ser al menos de 200 mM de ClNa (Greenway y Munns, 1980; Flowers *et al.*, 1986), considerando que a ese nivel se produce una reducción del potencial hídrico provocando interferencia en la absorción de nutrientes y pueden aparecer los efectos tóxicos de las sales; esta respuesta de las plantas frente al estrés varía de acuerdo a la especie vegetal, el genotipo, la composición iónica del agua, la luz, la humedad y el estadio de crecimiento de la planta (Bernstein y Hayward 1958; Greenway y Munns, 1980; Munns y Tester, 2008).

Desde el punto de vista agronómico, la tolerancia a la salinidad en determinadas especies o variedades se define como la habilidad de las plantas de sobrevivir y producir rendimientos económicos en condiciones de estrés y se expresa como la relación entre su rendimiento en condiciones salinas con respecto a su rendimiento en condiciones normales. Las plantas según su respuesta a altas concentraciones salinas, pueden agruparse en halófitas y glicófitas. Las primeras son aquellas nativas de suelos salinos, capaces de cumplir todo su ciclo de vida en dicho ambiente (Jennings, 1976), y las segundas son aquellas incapaces de sobrevivir bajo ciertas concentraciones salinas (Greenway y Munns 1980).

La habilidad de las plantas para tolerar la salinidad está determinada por múltiples respuestas, que pueden ser bioquímicas para facilitar la retención o absorción del agua,

funciones de protección del cloroplasto, compartimentalización de iones, síntesis de solutos, capacidad para mantener o tolerar bajas relaciones de  $K^+/Na^+$  en el citoplasma celular (Parida y Das, 2005; Flowers y Colmer, 2008). En algunas plantas se puede manifestar un aumento de la producción de raíces que permite una mayor exploración (Vanebles y Wilkins, 1978; Rubinigg *et al.*, 2002), mientras que en otras, se produce el efecto contrario y aumenta el crecimiento de la biomasa aérea (Hester *et al.*, 2001).

Munns y Tester (2008) mencionan tres categorías diferentes como mecanismos de tolerancia a la salinidad:

- Uno de los mecanismos involucrados es la tolerancia al estrés osmótico, también denominado osmorregulación, que permite a la planta tolerar condiciones de falta de agua y salinidad elevada. Las plantas realizan un ajuste celular osmótico para restablecer el equilibrio iónico, estas acumulan solutos en respuesta al déficit hídrico que les permite disminuir el potencial osmótico celular y mantener una relación isotónica entre compartimentos sub-celulares (Zhang *et al.*, 1999). La acumulación es a través de iones  $Na^+$  y  $K^+$ , y/o la síntesis de solutos orgánicos como prolina, betaína, polioles y azúcares solubles.
- Otro de los mecanismos es la exclusión de  $Na^+$  de la hoja y por las raíces, garantizando que el  $Na^+$  no se acumule en concentraciones tóxicas dentro de las hojas. Una falla en la exclusión de  $Na^+$  manifiesta su efecto tóxico después de días o semanas, dependiendo de la especie, y causa la muerte prematura de las hojas más viejas.
- El tercer mecanismo es tolerancia a la acumulación de iones de  $Na^+$  o de  $Cl^-$  en las hojas; la tolerancia del tejido requiere la fragmentación de  $Na^+$  y  $Cl^-$  a nivel celular e intracelular para evitar concentraciones tóxicas dentro del citoplasma, especialmente en las células del mesófilo de la hoja. La toxicidad se produce con el tiempo, después de que la hoja aumenta el  $Na^+$  en concentraciones elevadas en las hojas más viejas.

En términos generales los genotipos utilizan estos mecanismos para mantener una elevada actividad metabólica, aún en condiciones de un estrés salino importante. No obstante, existen mecanismos de aclimatación y escape al estrés, por los cuales el genotipo disminuye la actividad metabólica e ingresa en un estado de latencia, y se expresa a través del aumento de la tolerancia (Taiz y Zeiger, 1998 en Ashraf y Rauf, 2001). El criterio para evaluar la tolerancia a la salinidad puede variar según el nivel de estrés. En un nivel bajo, el principal criterio es la capacidad de producción del genotipo, mientras que el criterio a tener

en cuenta con altos niveles de salinidad es la capacidad de supervivencia del mismo (Epstein *et al.*, 1980).

#### **1.4 La genética tolerancia a la salinidad en plantas**

La tolerancia a la salinidad es considerada un carácter cuantitativo complejo y multigénico (Munns *et al.*, 2002; Flowers, 2004; Ashraf, 2004; Ashraf y Akram, 2009), dependiente de la especie (Pistorale *et al.*, 2008) o cultivar (Khatun y Flowers, 1995) y puede variar de acuerdo a la fenología (Munns *et al.*, 2002) y otros caracteres asociados. Diversos estudios han demostrado que este atributo, está gobernado por numerosos genes, mostrando heterosis, dominancia y efectos aditivos (Borsani *et al.*, 2003; Flowers, 2004; Yamaguchi and Blumwald, 2005; Zhang *et al.*, 2006b; Sreenivasulu *et al.*, 2007; Munns y Tester, 2008; Fleury *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que si bien existe heredabilidad en la tolerancia a la salinidad, esta depende de un número importante de caracteres y está muy influenciada por las interacciones genético-ambientales. Desde el punto de vista agronómico, cuando la selección se realiza en el campo, hay muchos casos que demuestran que un simple rasgo puede contribuir a mejorar la performance de la planta bajo estrés por salinidad.

De manera más reciente, también se demostró la mejora genética a través de la identificación de algunos genes asociados con la tolerancia a la salinidad (Gulick y Dvorac, 1992; Ducobsky *et al.*, 1994; Yokoi *et al.*, 2002; Lindsay *et al.*, 2004), los que fueron incorporados de manera transgénica (Hayashi *et al.*, 1997; Sakamoto *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2000; Sanan-Mishra *et al.*, 2005).

## **2. El mejoramiento genético de la tolerancia a la salinidad**

En los últimos años se ha producido en el país un desplazamiento de la ganadería hacia ambientes restrictivos que provocan la disminución del potencial productivo de las pasturas, por efecto de estreses abióticos como la salinidad, la sequía, el anegamiento y temperatura, entre otros. Existen diversas estrategias tendientes a reducir el impacto de los estreses abióticos sobre la producción agrícola-ganadera, las que involucran tanto acciones sobre los suelos, como esfuerzos para lograr variedades más tolerantes mediante el mejoramiento genético. Esta última estrategia se considera más sustentable y viable económicamente (Flowers, 2004; Agarwal *et al.*, 2006).

## 2.1 Variabilidad genética para tolerancia a salinidad

El mejoramiento genético convencional se basa fundamentalmente en la identificación y explotación de la variabilidad genética intra o interespecífica, mediante la selección de genotipos con caracteres asociados a tolerancia (Ashraf, 2004). La variabilidad genética puede detectarse en diversos niveles de organización biológica; puede existir entre individuos, entre poblaciones y entre variedades. Puede ocurrir en caracteres morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y/o moleculares, en cualquier etapa del ciclo de vida de un individuo (Primack y Kang, 1989). Se ha comprobado que la mayoría de las poblaciones de pasturas, ya sea naturales o naturalizadas, contienen abundante variación genética; la cantidad de esa variación depende del tipo y la intensidad de selección que las poblaciones hayan experimentado previamente (Snaydon, 1987).

Existen numerosos estudios de variabilidad genética relacionados al incremento de la tolerancia (Jacobsen y Adams, 1958; Epstein, 1977; Epstein *et al.*, 1980, Flowers y Yeo, 1995; Flowers y Colmer, 2008). Entre estos se destacan los estudios de variabilidad genética entre y dentro de especies de importancia agronómica (Epstein, 1977; Epstein *et al.*, 1980, Flowers y Yeo, 1995), que concluyeron en la obtención de cultivares de arroz (Akbar y Yabuno, 1977) y cebada (Epstein *et al.*, 1980), entre otros.

En especies forrajeras se ha demostrado variabilidad genética para caracteres asociados a tolerancia a salinidad (Dewey, 1960; Shannon, 1978; Roundy, 1987; Horst y Dunning, 1989; Johnson *et al.*, 1992; Ashraf, 1994; Shannon y Noble, 1995; Rogers *et al.*, 1997). En la misma línea, en Argentina se realizaron numerosos estudios de variabilidad genética en diversas especies forrajeras, *Chloris gayana* (Luna *et al.*, 2000; 2002); *Agropyron spp.* (García *et al.*, 2002); *Thinopyrum ponticum* (Pistorale *et al.*, 2008); *Lotus spp* (Pesqueira, 2008); *Cenchrus ciliaris* (Griffa *et al.*, 2010); *Elymus scabrifolius* (Zabala *et al.*, 2011); *Lotus corniculatus* (Franco, 2011); *Schenodorus phoenix* (Palacios *et al.*, 2015), entre otros.

El inicio de un programa de mejoramiento para tolerancia a estreses abióticos, como la salinidad, requiere de una clara definición de tolerancia y de una fenotipificación confiable que permita identificar y estimar variabilidad genética para dicho carácter. La tolerancia a salinidad depende del genotipo, de la duración e intensidad del estrés y del estadio de crecimiento del cultivo (Bernstein y Hayward, 1958; Shannon, 1997; Witcombe *et al.*, 2008; Demirevska *et al.*, 2009). Durante la germinación y emergencia de plántulas la tolerancia se cuantifica como porcentaje de sobrevivencia, mientras que en estado de planta adulta la tolerancia se mide en reducciones relativas del crecimiento (Ashraf, 2004; Läuchli y Grattan, 2007). La estimación de los parámetros genéticos en los caracteres de crecimiento inicial y

de planta adulta, sirve para delinear las diferentes etapas de un programa de selección y establecer criterios a aplicar en el proceso de mejora de una especie (Gardner, 1963; Dudley y Moll, 1969). La estimación de la heredabilidad ( $h^2$ ) en caracteres relacionados con la tolerancia a salinidad predice el éxito en la transmisión de la tolerancia a la descendencia. Según Falconer y Mackay (2001), la heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ), está dada por el cociente entre la varianza genética aditiva y la varianza fenotípica. Este parámetro expresa el grado en el que los fenotipos están determinados por los genes transmitidos por los padres, es decir que determina el grado de parecido entre parientes y por lo tanto es de gran importancia en los programas de mejoramiento ya que es el principal determinante de la respuesta a la selección.

## **2.2 Herramientas que asisten a la selección**

Los fitomejoradores han realizado avances significativos en la tolerancia a la salinidad para una cantidad importante de cultivos (Noble *et al.*, 1984; Allen *et al.*, 1985; Al-Khatib *et al.*, 1993; Ashraf 1994; Shannon 1998; Ashraf 2002; Ashraf, 2004), basado en diferencias productivas (Noble y Rogers 1992; Ashraf 1994). Los programas de mejoramiento convencionales se han sustentado en la estimación de parámetros genéticos sobre caracteres agronómicos, para delinear las diferentes etapas y poder formular criterios de selección (Snaydon, 1987). Si bien estos han sido exitosos, la determinación de criterios fisiológicos, que suministren información más exacta (Yeo, 1994, Munns 1993, 2002) han demostrado una complementación superadora para aplicar una selección más efectiva (Ashraf, 2004, Ashraf *et al.*, 2008). El mejoramiento asistido por marcadores moleculares (Loss, 1994; Forster *et al.*, 2001), ha avanzado de manera significativa en la selección de cultivos tolerantes a estreses (Vinh y Paterson, 2005). Estos son una herramienta importante para examinar el grado de adaptación al estrés en relación a diferencias productivas; caracterizar la variabilidad genética y aportar información asociada a los caracteres de interés. De esta manera el uso en conjunto de los parámetros genéticos obtenidos a través de caracteres morfológicos y fisiológicos y la caracterización molecular permitirá brindar alternativas superadoras a los programas de mejoramiento genético de la especie de manera más eficiente.

### **2.2.1 Caracteres agronómicos**

Los caracteres agronómicos se han utilizado ampliamente en la selección de genotipos a través de la expresión del fenotipo hasta la actualidad. El “fenotipado”, es “...*la evaluación integral de caracteres complejos de las plantas, tales como el crecimiento, el*

*desarrollo, la tolerancia, la resistencia, la arquitectura, la fisiología, la ecología, el rendimiento y la medición básica de parámetros cuantitativos individuales que constituyen las bases de los caracteres más complejos.*” según Lemnatec (2012). A continuación, se mencionan los caracteres componentes del rendimiento de forraje y de semillas en especies forrajeras más utilizados en la selección. El color de hoja, si bien es un carácter cualitativo se considera importante al momento de realizar el descriptor de la sintética y/o cultivar y está determinado por el contenido de clorofila del mesófilo (Black, 1975) y el grosor de cutícula (Esau, 1987). Por otro lado, el hábito de crecimiento y la disposición de las hojas determinan la estructura de canopeo en especies forrajeras y condicionan el manejo de las pasturas (Pearson e Ison, 1994). En cuanto a la altura de planta es una variable muy afectada por el ambiente (Gillet, 1984) y utilizado para la correlación entre caracteres (Guillén, 2002). El número de macollos vegetativos y el peso de los macollos, son los principales determinantes del rendimiento de forraje en una pastura (Jewis, 1972; Zarrouh, 1983). El diámetro de planta es una variable a considerar en los programas de mejoramiento de especies forrajeras ya que está fuertemente correlacionado con la producción de materia seca (Álvarez, 2010). La producción de materia seca estacional y acumulada, es una de las variables de mayor valor para aplicar selección y está fuertemente asociada al ambiente (Ashraf, 2004). La fecha de floración y la emergencia de espiga son variables determinadas por el fotoperíodo, la temperatura y el suministro de agua (Rhebergen, 1985; Ernst, 1987). Asimismo, el número de espigas es uno de componentes más importante del rendimiento de semilla y en la mayoría de las forrajeras muestra elevada correlación con la cantidad de macollos vegetativos (Bertín, 1993; Smith *et al.*, 1994). Mientras que el largo de espiga es una de las variables indirectas del rendimiento de semilla y generalmente está asociada al peso de semilla muy dependiente del origen del germoplasma (Andrés *et al.*, 1998; Ruíz Díaz y Andrés, 1998). El peso de mil semillas es otro de los componentes importante en la determinación del rendimiento, y presenta correlación positiva con el vigor inicial de las plántulas y la sobrevivencia de la pastura (Twamley, 1967, 1974; Raja y Bean, 1979; Schaal y Smith, 1980). El peso total de semillas es otro carácter de gran interés y es indicativo del éxito en la difusión del nuevo cultivar, ya que está directamente asociado al rendimiento de semillas. Este carácter es altamente dependiente del ambiente y ha sido muy bien estudiado (Bugge, 1984; Elgersma *et al.*, 1989; Bertín, 2004). Numerosos estudios realizados en agropiro alargado han utilizado y descrito el comportamiento de los caracteres mencionados (Andrés, 2001; Guillén, 2002, Pistorale *et al.*, 2005; Pistorale *et al.*, 2008, Basigaluppi y Pistorale, 2009; Friguglietti *et al.*, 2009; Acuña *et al.*, 2009; Ramirez, 2010;

Mansilla *et al.*, 2011; Palacios *et al.*, 2015; Maciel *et al.*, 2015; Plaza *et al.*, 2016; Veliz *et al.*, 2018)

### **2.2.2 Caracteres fisiológicos**

Los mecanismos fisiológicos responsables de la tolerancia a la salinidad en plantas, actúan limitando el crecimiento ya sea a través de un efecto osmótico provocado por las sales en el suelo y/o un efecto tóxico de las sales acumuladas en la planta. Munns y Tester (2008) describen la respuesta de las plantas al estrés salino en términos de reducción en el crecimiento en dos fases: (i) una respuesta rápida al incremento de la presión osmótica externa y (ii) otra respuesta más lenta debida a la acumulación de sodio en las hojas. La primera fase osmótica es la que comienza inmediatamente después que la concentración de sales en la zona enraizable se incrementa hasta determinados umbrales (Munns, 2005a, 2005b; Munns y Tester, 2008) y el crecimiento cae significativamente. Es decir, el exceso de solutos en la solución del suelo produce una disminución del potencial osmótico y consecuentemente del potencial hídrico, generando un efecto similar a la falta de agua en el suelo; de esta manera las células pierden turgencia, limitando la expansión celular, acotando el crecimiento y provocando por último el marchitamiento de la planta (Munns y Tester, 2008; Alemán-Guillén, 2009; Talesnik *et al.*, 2009). En cuanto a la segunda etapa, ión específica, comienza cuando las sales se acumulan a concentraciones tóxicas en las hojas viejas (que ya no están en expansión y por lo tanto no diluyen la sal que llega a ellas como si lo hacen las hojas jóvenes en crecimiento), y se mueren (Munns y Tester, 2008). Si la tasa a la que lo hacen es mayor que la tasa de producción de hojas nuevas termina disminuyendo el área fotosintética lo que determina reducciones en la fotosíntesis neta, reduciendo su crecimiento (Munns, 2005b; Parida y Das, 2005; Munns y Tester, 2008).

Otra respuesta común de las plantas para contribuir al ajuste osmótico, ante condiciones de estrés es la producción de solutos compatibles. Este es un término dado a compuestos muy solubles de bajo peso molecular que se pueden acumular a niveles altos dentro de las células sin pérdida de función celular. Estos son osmoprotectores que protegen las plantas detoxificando las EROs, protegiendo la estructura de membranas y estabilizando proteínas (Yancey *et al.*, 1982; Bohnert y Jensen, 1996; Ashraf y Foolad, 2007). Entre los más conocidos se destaca la prolina, la cual se acumula en altas concentraciones en respuesta a varios estreses abióticos. La acumulación de prolina normalmente se da en el citosol donde favorece fuertemente al ajuste osmótico en plantas sometidas a estrés hídrico o salino (Leigh *et al.*, 1981; Binzel *et al.*, 1987; Ketchum *et al.*,

1991). En muchas especies la concentración de prolina ha sido correlacionada con la tolerancia al estrés (Fougere *et al.*, 1991; Madan *et al.*, 1995; Petrusa y Winicov, 1997).

Para el segundo efecto planteado (toxicidad) se ve como un aumento en la tasa de senescencia de las hojas más viejas, ya sea por altas concentraciones de  $\text{Na}^+$  en las hojas o baja tolerancia del  $\text{Na}^+$  acumulado. La concentración de  $\text{Na}^+$  en la hoja se mide mejor en una hoja determinada, de una determinada edad si la planta se expone al  $\text{Na}^+$  en torno al momento de aparición de esa hoja (Munns y James, 2003). Por otro lado, la senescencia foliar se puede medir de manera no destructiva a través de un medidor de clorofila (Munns y Tester, 2008). Otro efecto que surge debido a la acumulación excesiva de sales en los tejidos de la planta es el estrés oxidativo, el cual es de tipo bioquímico y se genera ante cualquier alteración de las condiciones óptimas de cultivo, incide de forma negativa en la fisiología de la planta, provocando una alteración de la cadena de transporte electrónico (Halliwell, 1987). Esta alteración bioquímica se manifiesta como un incremento en la tasa de producción de EROs tales como superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y radicales hidroxilos ( $\text{OH}^\cdot$ ), las cuales son altamente reactivas y pueden causar daño celular a través de daño oxidativo al ADN, oxidación de proteínas y peroxidación de estructuras lipídicas (Neill *et al.*, 2002 a,b; Ashraf y Foolad 2007; Ashraf, 2009). Entre los marcadores que indican el grado de daño oxidativo que están sufriendo las plantas, en respuesta a un estrés se destaca el malondialdehído (MDA) este es un subproducto de la peroxidación de lípidos de las membranas biológicas (Wong *et al.*, 1987). El aumento en su contenido es indicativo de un incremento del daño oxidativo (Gossett *et al.*, 1994; Dionisio-Sese y Tobita, 1998; Sudhakar *et al.*, 2001) y ha sido usado como un criterio eficiente para discriminar entre cultivares con respecto al grado de tolerancia al estrés salino (Meloni *et al.*, 2003; Liang *et al.*, 2003; Brankova *et al.*, 2005; Ruiz *et al.*, 2005; Sairam *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2000, 2002; Lanza Castelli *et al.*, 2010, Ashraf *et al.*, 2010).

### **2.2.3 Marcadores moleculares**

La contribución de los marcadores moleculares al mejoramiento genético de especies forrajeras ha tomado mayor relevancia durante los últimos años. La mayoría de los estudios en especies forrajeras han utilizado fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP) y amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), y se han concentrado en perfiles de ADN en lugar del mapa genético básico de desarrollo y de detección gen/QTL. El desarrollo de marcadores con alta eficiencia tales como polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y microsatélites (SSR)



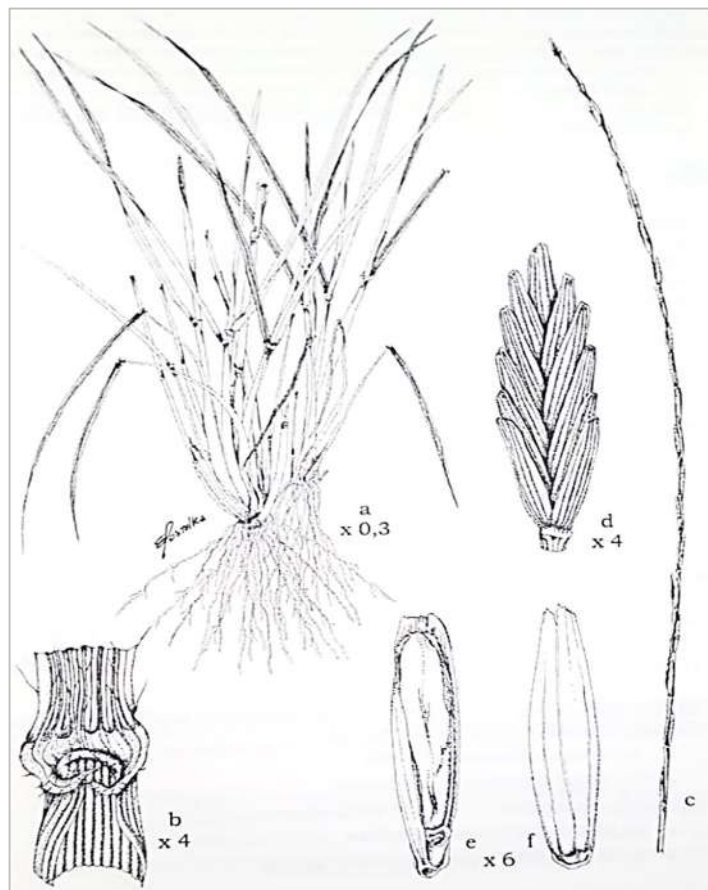
permiten una rápida construcción de mapas y análisis de caracteres específicos (Forster *et al.*, 2001). Una de las principales ventajas de los SSR es su gran variabilidad y facilidad para realizar su análisis y clasificación, al ser marcadores codominantes (los heterocigotos se pueden distinguir de los homocigotos), son más informativos para definir genotipos individuales (Weising *et al.*, 1991; Forster *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2001). Los SSR son marcadores particularmente aptos para realizar la evaluación y comparación de la variación genética dentro y entre especies cercanas (Morgante y Olivieri, 1993, Powell *et al.*, 1996; Studer *et al.*, 2006). Una de sus limitaciones es que no hay información disponible para muchas especies y a su vez requiere mucho trabajo para su desarrollo (Ferreira y Grattapaglia, 1998; Becerra y Paredes, 2000).

En la actualidad se registran escasos estudios de variabilidad genética a nivel molecular para *Thinopyrum ponticum per se* (Maciel *et al.*, 2016). La mayor cantidad de estudios a nivel molecular reportados en la bibliografía están asociados principalmente al mejoramiento genético de trigo (Li *et al.*, 2003; Oliver *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2008). Como así tampoco hay SSR desarrollados para la especie, sin embargo, existen diversos estudios que demuestran la posibilidad de realizar estudios a nivel molecular con SSR transferidos de otras poáceas (Cuyeu, 2008; Acuña, 2009; Maciel *et al.*, 2016)

### **3. La especie bajo estudio: *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barworth et Dewey.**

#### **3.1 Aspectos generales de la especie**

El agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barworth *et Dewey*] es una forrajera perenne, cespitosa, alógama y decaploide ( $2n=10x=70$ ) perteneciente a la familia *Poaceae* (Figura 1.3), con un ciclo de otoño-invierno-primaveral (Maddaloni y Bertin, 1990). Sin embargo, puede ser activa en verano y crece mejor a fines de primavera y verano con una disponibilidad de agua adecuada (Mazzanti *et al.*, 1992), el crecimiento disminuye en invierno. Su hábito de crecimiento es cespitoso, y produce muchos macollos que forman grupos densos. La especie también se conoce como: *Agropyron elongatum* (Host) Beauv., *Elytrigia elongata* (Host) Nevski, *E. pontica* (Podp.) Holub, *Elymus varnensis* (Velen.) Runemark, *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Löve y *Thinopyrum ponticum* (Podp.) (Barkworth y Dewey, 1985; Dewey, 2011)



**Figura 1.3:** *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barworth et Dewey. a) planta al estado vegetativo; b) lígula y aurículas; c) inflorescencia; d) espiguilla; e) antecio (cariopse vestido) cara ventral mostrando resto de raquilla; f) antecio (cariopse vestido) cara dorsal. (Ferrari y Maddaloni, 2001).

Es nativa de la región del Mediterráneo oriental, desde el sur de Europa hasta Asia Menor y Crimea, dónde se encuentra en suelos salinos y en playas. Está clasificada como planta C3 con características de estación fría, y su eficiencia en el uso del agua en hábitats ligeramente salinos varía según la estación (Johnson, 1991; Ferrari y Maddaloni, 2001). En Argentina fue introducida desde los EEUU en la década de 1940 para su utilización como especie forrajera en la región semiárida argentina, dada su capacidad para disminuir la erosión eólica (Covas, 1959). Posteriormente se difundió hacia las zonas subhúmeda-húmedas del país (San Martino y Milicevic, 1995).

Es una gramínea forrajera de regiones templadas que se adapta a condiciones extremas de humedad (desde húmedas a semiáridas) y temperaturas (desde templadas a frías) pudiendo sembrarse en casi todo el territorio argentino (Mazzanti et al., 1992). Falasca et al. (2017) en un estudio reciente, determinaron las zonas agroclimáticas para el desarrollo del cultivo de agoproiro alargado en Argentina (Figura 1.4).

Si bien su mayor difusión fue en la región pampeana ocupando los suelos bajos hidro-halomórficos (Maddaloni y Bertín, 1990) también se encuentra ampliamente distribuida en la región semiárida Argentina, lo que demuestra su plasticidad fenotípica (Covas, 1963; Covas y Ballari, 1969; Mazzanti *et al.*, 1992, Alonso y Borrajo, 1999). Una de las características más limitantes de la especie es su lento crecimiento inicial, que se acentúa aún más en estos tipos de suelos.

Dada la importancia de la especie en el país, diferentes Estaciones Experimentales Agropecuarias (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) han estudiado diferentes aspectos productivos relacionados al manejo de la fertilización con nitrógeno y fósforo (Fernández Grecco *et al.*, 1996; Piaggio *et al.*, 1998; Borrajo y Alonso, 2000; Marino *et al.*, 2000; Fernández Grecco y Agnusdei, 2001; Bandera *et al.*, 2011; Scheneiter *et al.*, 2011; Perea y Duhalde, 2015), al pastoreo y a la producción de semilla (Maddaloni y Bertín, 1990; Castaño, 1995; Alonso y Borrajo, 1999), y a la producción de forraje y calidad (Bertín, 1993; Alonso *et al.*, 1997; Alonso *et al.*, 1998; Ricci *et al.*, 2009; Ramirez, 2010, Menghini *et al.*, 2013; Lavandera, 2014; Sevilla *et al.*, 2014; Acuña *et al.*, 2014).

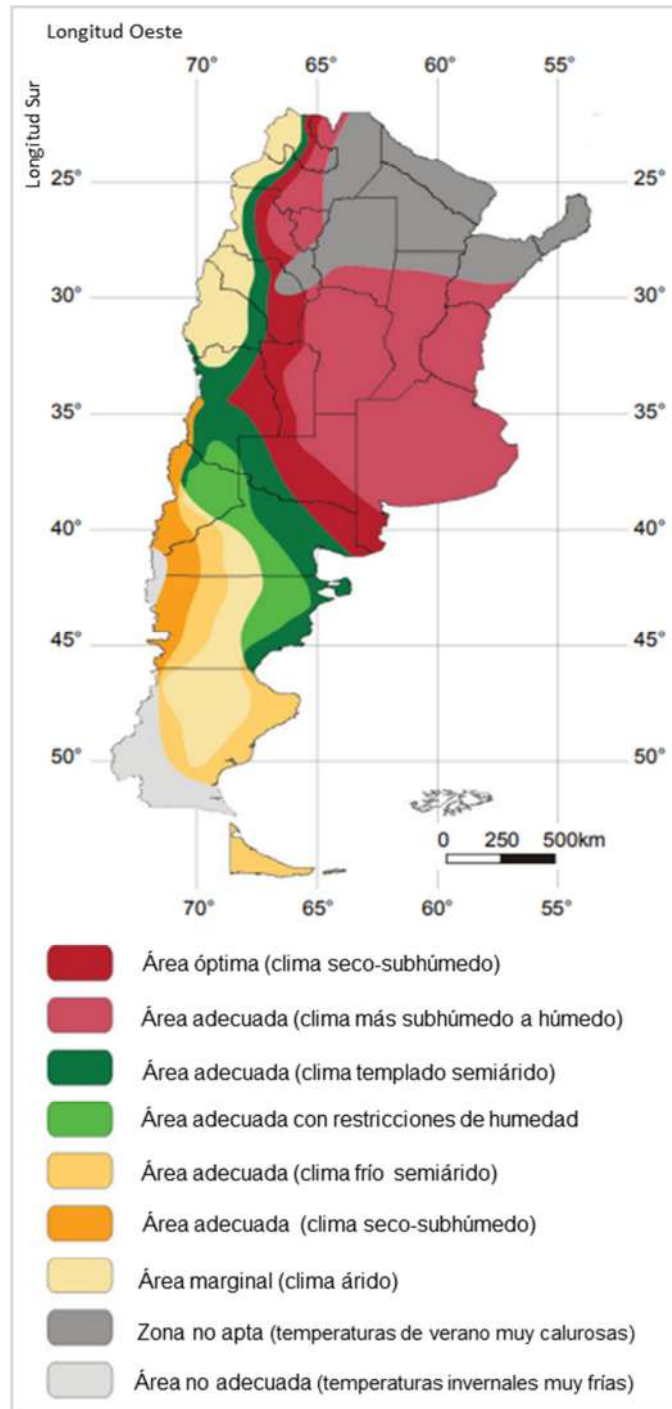


Figura 1.4: Zonas agro-climática para el agropiro alargado, Falasca *et al.*, 2017.

### 3.2 Aspectos genéticos de la especie

El agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp) Berk. Dewey], pertenece al orden *Poales*, familia *Poaceae*, tribu *Triticeae*, género *Thinopyrum*, originario del Sur de Europa y

Asia Menor (Asay y Jensen, 1996), formado por 10 especies que incluye diploides ( $2n=14$ ), tetraploides ( $2n=28$ ), octaploides ( $2n=42$ ) y decaploides ( $2n=70$ ) (Dewey, 1984, Vogel *et al.*, 1999). El agropiro alargado es alógama, decaploide ( $2n=10x=70$ ), caracterizado por presentar altos niveles de tolerancia a factores abióticos, en particular estrés por salinidad (Shannon, 1998; McGuire y Dvorak, 1981, Bennett *et al.*, 2009), motivo por el cual ha sido una de las Tritíceas perennes más importantes para el mejoramiento de trigo desde 1930 (Dewey 1984; Knott, 1961; Sebesta y Bellingham, 1963; Cauderon 1966; Knott, 1968; Sebesta *et al.*, 1972; Cauderon *et al.*, 1973; Martin *et al.*, 1976; Pfannenstiel y Niblett, 1978; Whelan *et al.*, 1983; Dvorák 1985, Whelan y Hart 1988; Xin *et al.*, 1988; Kim *et al.*, 1993; The *et al.*, 1992; Banks *et al.*, 1993; McIntosh *et al.*, 1993; Jiang y Gill, 1993; Jiang y Gill, 1994; Mujeeb-Kazi, 1994; Friebe *et al.*, 1994; Sebesta *et al.*, 1995; Sharma *et al.*, 1995; Friebe *et al.*, 1996, Chen *et al.*, 1998a, 1998b; Dundas y Shepherd, 1998; Xia Guangmin *et al.*, 2004; Gill *et al.*, 2006; Li y Wang, 2009).

La identificación de la composición exacta del genoma para *Thinopyrum ponticum* aún está incompleta (Chen *et al.*, 1998b). *Thinopyrum ponticum* es un autodecaploide basado en gran parte en los genomas J o E de *Thinopyrum bessarabicum* y *Thinopyrum elongatum* (Muramatsu 1990; Wang *et al.*, 1991). Sin embargo, Zhang *et al.* (1996a) concluyó que el genoma S de *Pseudoroegneria strigosa* también estaba presente en *Thinopyrum ponticum* y que la región centromérica era crítica para distinguir estos cromosomas de los cromosomas tipo E o J, también presentes en esta especie. Chen *et al.*, (1998a) a través hibridación *in situ* (GISH), concluyeron que *Thinopyrum ponticum* debe considerarse como un autodecaploide segmentario y propusieron una constitución genómica haploide que puede escribirse como  $JJJJ^S J^S$ , donde J se refiere a los cromosomas de tipo J o E estrechamente relacionados con los genomas de *Thinopyrum bessarabicum* y *Thinopyrum elongatum*, mientras que  $J^S$  se refiere a cromosomas de tipo J o E modificados que se distinguen por la presencia de secuencias específicas del genoma S de *Pseudoroegneria strigosa* cerca del centrómero.

### 3.3 Estudios sobre tolerancia a salinidad en la especie

En la actualidad además de los criterios agronómicos aplicados, es necesario realizar investigaciones en aspectos relacionados a componentes fisiológicos y moleculares en respuesta a la salinidad (halomorfismo), que asistan al mejoramiento convencional, no solo para el desarrollo de nuevos cultivares destinados a ambientes cada vez más restrictivos, sino también para el mayor conocimiento de la especie. El comportamiento de la

especie en condiciones de salinidad fue estudiado ampliamente, en distintas etapas fenológicas. Dewey (1960), estudió una colección de 25 accesiones de agropiro alargado a elevados rangos de salinidad en etapa germinativa y de plántula, obteniendo accesiones que demostraron elevados índices de tolerancia, donde *Thinopyrum ponticum* (= *Agropyron elongatum*), fue el más tolerante. Otros estudios demostraron similares resultados, tanto en invernáculo como a campo (Rauser y Crowle, 1963; Moxley *et al.*, 1978). Posteriormente, Shannon (1978) en un estudio de la respuesta a la tolerancia a la salinidad en plántulas de 32 líneas durante un periodo de tres meses con valores muy elevados de salinidad (76,5 dS/m ClNa), observó sobrevivencia de algunas líneas a esas condiciones. Similares resultados obtuvieron McGuire y Dvôrák (1981) con elevadas tasas salinas (750mM ClNa) observando un 93% de supervivencia a los 26 días de germinadas. En estudios comparativos con otras poaceas en la misma etapa, Maas y Hoffman (1977) consideraron al agropiro alargado junto con la cebada especies tolerantes a salinidad, ya que ambas fueron capaces de germinar y crecer en conductividades eléctricas (CE) entre 6,9 y 8 dS/m. Priano y Pilatti (1989) también arribaron a conclusiones similares, observando una reducción del 50% de germinación relativa recién a 20dS/m. Desde el punto de vista del rendimiento en materia seca, Maas y Hoffman (1977) demostraron que el agropiro alargado fue la especie con mayor umbral de tolerancia, no viendo afectada su producción relativa de biomasa hasta una CE de 7,5dS/m, llegando a reducirla a un 50% recién a 19dS/m. Consecutivamente, varios autores corroboraron dicho comportamiento y la catalogaron como una de las especies monocotiledóneas más tolerantes a la salinidad (Roundy, 1987; Weimberg y Shannon, 1988; Omielan *et al.*, 1991; Shannon, 1997; Vogel y Moore, 1998; Amacher *et al.*, 2000; Suyama *et al.*, 2007a, 2007b; Ashkan y Jalal, 2013; Jauregui *et al.*, 2017), motivo por el cual ha sido ampliamente utilizada como fuente de genes en Triticáceas para mejorar la tolerancia a salinidad y sequía en trigo (Dvorak, 1985; Colmer *et al.*, 2005; Colmer *et al.*, 2006; Munns y Tester, 2008; Ceoloni *et al.*, 2014). Con respecto a las bases fisiológicas, la alta producción forrajera de esta especie bajo condiciones salinas ha sido asociada al mantenimiento de la turgencia y a la capacidad para restringir la acumulación de iones sodio y cloruro en hojas (Greenway y Rogers, 1963; Shannon, 1978; Weimberg y Shannon, 1988; Johnson, 1991; Gorham *et al.*, 1994).

En Argentina varios autores estudiaron el comportamiento de diferentes poblaciones naturalizadas de agropiro alargado en condiciones de salinidad, tanto en fase germinativa (Bazzigalupi *et al.*, 2008) como en subsiguientes estadios de crecimiento a través de diferentes variables de interés agronómico (Borrajo *et al.*, 1997; Borrajo y Reigosa Roger, 2008; Pistorale *et al.*, 2008; Rosso y Andrés, 2009; Acuña *et al.*, 2009; Mansilla *et al.*, 2011)

#### 4. Mejoramiento genético de la especie

En Argentina el mejoramiento genético y la evaluación de Agropiro alargado se inició aproximadamente a partir de la década del cuarenta. En el INTA Pergamino, se introdujeron y evaluaron 112 accesiones del género *Agropyron*, de las cuales sólo 13 correspondieron a *A. elongatum* (Andrés, 2001). Como producto del proceso de introducción, prueba y selección, en 1953 se creó y difundió el cultivar “El Vizcachero INTA”, obtenido por selección masal a partir de un material proveniente de Estados Unidos (Mazzanti *et al.*, 1992). Si bien el agropiro alargado, junto a otras especies, constituye una de las principales gramíneas perennes de las pasturas de clima templado húmedo, el número de cultivares registrados en el Registro Nacional de Cultivares de Argentina (RNC) del Instituto Nacional de Semillas (INASE) es menor respecto al de otras gramíneas. Actualmente se encuentran registrados 19 cultivares de agropiro alargado (Tabla 1.2), de los cuales cinco han sido obtenidos por INTA y licenciados para su incremento y comercialización a empresas del sector semillero nacional (catálogo INTA <http://inta.gob.ar/variedades>).

**Tabla 1.2:** Registro de cultivares de *Thinopyrum ponticum*. RNC-INASE

Cultivar	Inscripción RNC	Inscripción RNCP	Validez RNPC	Solicitante
EL POLACO INTA	1981-01-13	0000-00-00	0000-00-00	
EL VIZCACHERO INTA	1981-01-13	0000-00-00	0000-00-00	
LACAR	1997-11-28	1997-11-28	2017-11-28	INTERSEM S.A
GUAPO	2000-11-02	2000-11-02	2020-11-02	LOS PRADOS S.A.
HULK	2005-04-26	2005-08-18	2025-08-18	GENTOS S.A.
BARPIRO	2005-07-20	2005-08-22	2025-08-22	PALAVERSICH Y CIA S.A.C.
MATORRAL	2006-08-29	0000-00-00	0000-00-00	ZAMBRUNI JOSE ANTONIO
RAYO INTA FCA	2006-10-18	2006-10-18	2026-10-18	INTA
TOBIANO INTA	2007-05-14	2007-05-14	2027-05-14	INTA
ATAHUALPA INTA	2008-03-19	2008-03-19	2028-03-19	INTA
PUCARA PV-INTA	2010-06-18	2010-06-18	2030-06-18	INTA
RELAMPAGO	2011-09-13	0000-00-00	0000-00-00	KWS ARGENTINA S.A.
ZHALINO	2011-12-30	0000-00-00	0000-00-00	KWS ARGENTINA S.A.
HERCULES	2013-02-14	2013-02-14	2033-02-14	GENTOS SA
EXTREMO INTA	2013-05-21	2013-05-21	2033-05-21	INTA
TORNADO	2014-08-21	0000-00-00	0000-00-00	JOSE R. PICASSO S.A.
RANQUEL INTA	2015-09-29	2015-09-29	2035-09-29	INTA
LIEBRE	2016-09-13	2016-09-13	2036-09-13	FAUBA
SOFT	2018-10-25	0000-00-00	0000-00-00	GENTOS S.A.

Fuente: <https://gestion.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones>



## HIPOTESIS Y OBJETIVOS

---

### **Hipótesis general**

En condiciones de halomorfismo el crecimiento de genotipos y familias de medios hermanos (FMH) de agropiro alargado expresan un componente genético heredable asociado al ambiente

### **Objetivo general**

Estudiar el comportamiento fenotípico y genético de genotipos y familias de medios hermanos de agropiro alargado creciendo en condiciones de halomorfismo para seleccionar individuos y/o familias de medios hermanos e incrementar el conocimiento de dicha especie en estas condiciones.

### **Objetivos específicos**

- Cuantificar la variabilidad genética en la población de agropiro alargado a nivel molecular y morfológico
- Fenotipificar el crecimiento de los genotipos de agropiro alargado en condiciones de halomorfismo en hidroponia
- Fenotipificar el crecimiento inicial de FMH de agropiro alargado en condiciones de halomorfismo en hidroponia
- Estimar parámetros genéticos, heredabilidad y plasticidad fenotípica en los genotipos de agropiro alargado.
- Detectar genotipos y FMH tolerantes y susceptibles al halomorfismo
- Evaluar el comportamiento agronómico de las FMH tolerantes en condiciones de campo

## **CAPITULO II**

---

# **VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO DE *THINOPYRUM PONTICUM***

## INTRODUCCIÓN

---

La caracterización fenotípica y genética del germoplasma a utilizar en cualquier programa de mejoramiento genético es crucial para detectar la variabilidad genética presente y aplicar selección (Forster *et al.*, 2001; Acquah, 2012). En términos generales los objetivos primarios de la mayoría de los programas de mejoramiento de especies forrajeras han sido el incremento de la producción de forraje y de semilla, la persistencia productiva y la calidad; sin embargo, en los últimos años la selección por tolerancia a factores abióticos ha tomado mayor importancia debido a los efectos producidos por el cambio climático.

### 1. Variabilidad Genética

El mejoramiento genético de una especie depende de la magnitud y la naturaleza de la variación genética existente en el germoplasma disponible (Harlan, 1983). Diversos estudios demostraron en una gran cantidad de especies vegetales la existencia de variabilidad genética, la cual puede detectarse tanto a niveles inter-específico como intra-específico (Bradshaw, 1984; Briggs y Walters, 1984; Barret y Khon, 1991; Young *et al.*, 1996; Reed, 2005). Estos niveles de variación son generalmente afectados por factores ecológicos y geográficos donde se distribuye la especie (Van Valen, 1965; Soulé, 1973; Tilman y Downing, 1994), además del sistema reproductivo (Wright, 1951), la longevidad de la planta (Hamrick, 1979), y la magnitud de la variación detectable a nivel inter o intra-poblacional puede ser muy diferente dependiendo de la especie considerada (Schaal y Smith, 1980; Van Valen, 1965; Snaydon, 1984; Jain, 1975; Loveless y Hamrick, 1984).

El sistema reproductivo de una especie puede tener efecto directo sobre la diversidad genética presente en una población. En especies autóгамas, el flujo génico es restringido, por lo tanto, la variabilidad génica sería mayor entre poblaciones que dentro de poblaciones (Snaydon, 1978), mientras que en especies alógamas la variabilidad genética sería mayor entre individuos de la misma población que entre poblaciones (Andrés, 1987). Aunque en algunas ocasiones no siempre responde a este patrón (Brown y Jain, 1979), sino que sería el conjunto, es decir el sistema reproductivo como el flujo génico, la selección y una complejidad de factores ambientales los que finalmente determinan los niveles de variabilidad genética presente en las poblaciones (Schemeske, 1984).

Dentro de las especies alógamas, entre las cuales se incluyen la mayoría de las forrajeras de clima templado, se encuentra el agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth], estas especies presentan un alto grado de variabilidad morfo-genética

entre poblaciones y dentro de las poblaciones (Tyler *et al.*, 1987; Schultze-Kraft, 1990). En este nivel los individuos que integran la población tienen genotipos cuyos genes se encuentran normalmente en estado heterocigota (Hiorth, 1985) y la variabilidad intrapoblacional se encuentra en relación directa con el tamaño de la población, y la heterogeneidad ambiental que ocurre a pequeña escala (Levins, 1968). En el caso de agropiro alargado interesan desde el punto de vista morfológico caracteres asociados a la producción de materia seca (índice de cosecha de la parte aérea), a la producción de semillas y al comportamiento frente a determinados estreses abióticos (exceso de sales, altas temperaturas, déficit hídrico, anegamiento, entre otros).

En nuestro país se han realizado diversos estudios de variabilidad genética en la especie, a nivel morfológico (Borrajo *et al.*, 1997; Andrés y Guillén, 2001; Guillén, 2002; Pistorale *et al.*, 2008; Rosso *et al.*, 2008; Rosso, 2012) en poblaciones provenientes de la Depresión del Salado; en algunos estudios la diversidad dentro de las poblaciones fue mayor que entre ellas. Otros estudios analizaron aspectos relacionados con la adaptación del germoplasma a ambientes marginales, donde crece la especie (Andrés, 2001; Andrés, 2007; Pistorale *et al.*, 2008; Bazzigalupi y Pistorale, 2009; Bazzigalupi *et al.*, 2008; Rosso y Andrés, 2009; Mansilla, 2012), y Ramirez (2010) evaluó familias de medios hermanos (FMH) y detectó variabilidad genética inter-familiar en caracteres de interés agronómico.

## **2. Marcadores morfológicos y moleculares**

Hasta la década del 60, los marcadores utilizados en estudios de genética y mejoramiento eran aquellos controlados por genes asociados a caracteres morfológicos, en general fenotipos de fácil identificación visual; los cuales contribuyeron significativamente al desarrollo teórico del análisis de ligamiento y a la construcción de las primeras versiones de mapas genéticos (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Sin embargo, pocos caracteres fenotípicos en los cultivos forrajeros se lograron caracterizar genéticamente y tampoco hubo alguna vinculación genética en estudios realizados al respecto (Barker y Warnke, 2001). En la actualidad, muchos de estos marcadores morfológicos tales como forma, color, tamaño y altura, entre algunos de ellos, se convirtieron en importantes descriptores al momento de realizar inscripciones de cultivares (Picca *et al.*, 2004).

Por otra parte, en los últimos años la contribución de los marcadores moleculares al mejoramiento genético de especies forrajeras ha tomado mayor relevancia. La mayoría de los estudios en especies forrajeras han utilizado RFLP y RAPD, y se han concentrado en perfiles de ADN en lugar del mapa genético básico de desarrollo y de detección gen/QTL. El

desarrollo de marcadores con alta eficiencia tales como AFLP y SSR permiten una rápida construcción de mapas y análisis de caracteres específicos (Forster et al, 2001).

Los *loci* microsatélites o repeticiones de secuencias simples (SSR-Simple Sequence Repeats-) (Forster et al., 2001; Wang et al., 2001) están compuestos por repeticiones en tándem de dos a seis pares de bases flanqueadas por regiones conservadas no repetitivas, de copia única y suelen estar ubicados en regiones no codificantes. Estas secuencias son abundantes y de amplia distribución en el genoma de todo tipo de organismo, son altamente polimórficos por ser de naturaleza multialélica, somáticamente estables y altamente reproducibles (Weising et al., 1991). Son marcadores codominantes que pueden diferenciar los genotipos homocigotos que presentaran un único producto de amplificación, de los genotipos heterocigotos que presentaran dos fragmentos distintos (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Por estas características los SSR son marcadores particularmente aptos para realizar la evaluación y comparación de la variación genética dentro y entre especies cercanas (Morgante y Olivieri, 1993, Powell et al., 1996; Studer et al., 2006). Entre sus limitaciones tenemos que no hay información disponible para muchas especies y a su vez requiere mucho trabajo para su desarrollo (Ferreira y Grattapaglia, 1998; Becerra y Paredes, 2000)

En *Thinopyrum ponticum* no se dispone de información de secuencia de su genoma, ni de cebadores SSR genómicos desarrollados *de novo*; sin embargo, existe información de trabajos moleculares aplicados a la hibridación y transferencia de genes (Wang et al., 1991; Friebe et al., 1996; Wang et al., 1996; Chen et al., 1995; Chen et al., 1998a, b) y al mejoramiento genético (Li et al., 2003; Oliver et al., 2006; Li et al., 2008) de trigo (Dewey, 1984). Otros estudios demuestran la posibilidad de realizar trabajos a nivel molecular con SSR transferidos de otras poáceas (Cuyeu, 2008; Acuña, 2009).

El presente capítulo propone estudiar la variabilidad genética entre genotipos que integran la población de agropiro alargado a nivel morfológico y molecular.

## HIPOTESIS Y OBJETIVOS

---

### Hipótesis

- Existe variabilidad morfológica y genética en la población estudiada considerando que *Thinopyrum ponticum* es una especie alógama y decaploide.
- Existe un componente genético en la variación fenotípica observada que permite estimar la heredabilidad en sentido amplio.
- El genoma conservado de especies poáceas permite transferir marcadores moleculares de SSR a *Thinopyrum ponticum*

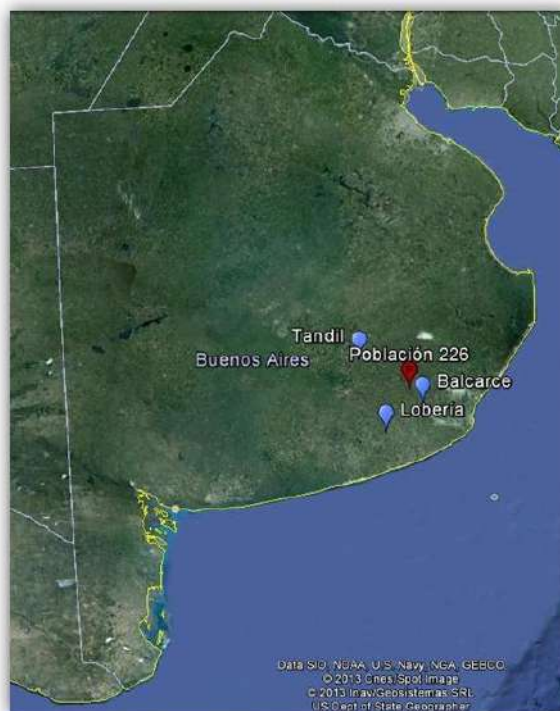
### Objetivos

- Estimar la variabilidad genética existente entre los genotipos de la población en estudio de *Thinopyrum ponticum* a través de caracteres morfológicos y moleculares.
- Estimar componentes de varianza fenotípica y heredabilidad en sentido amplio en los caracteres morfológicos asociados a producción de forraje y semilla.
- Transferir marcadores SSR genómicos de otras especies poáceas a *Thinopyrum ponticum*.
- Evaluar en los genotipos el consenso entre la variabilidad morfológica y molecular.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. La población estudiada

Entre los años 1999 y 2004 en el INTA Pergamino se realizaron colectas y caracterizaciones de numerosas poblaciones de agropiro alargado provenientes de la Depresión del Salado (Foto 2.1), con la finalidad de introducir las al Programa de mejoramiento de la especie (Rosso y Andrés, 2009). La población 226, proveniente de la Depresión del Salado, lugar de colecta cercano a la localidad de Ramos Otero fue evaluada en el presente estudio y estuvo representada por 35 genotipos. A continuación, se presentan los dos estudios realizados para detectar la variabilidad genética de la población a nivel morfológico y a nivel molecular.

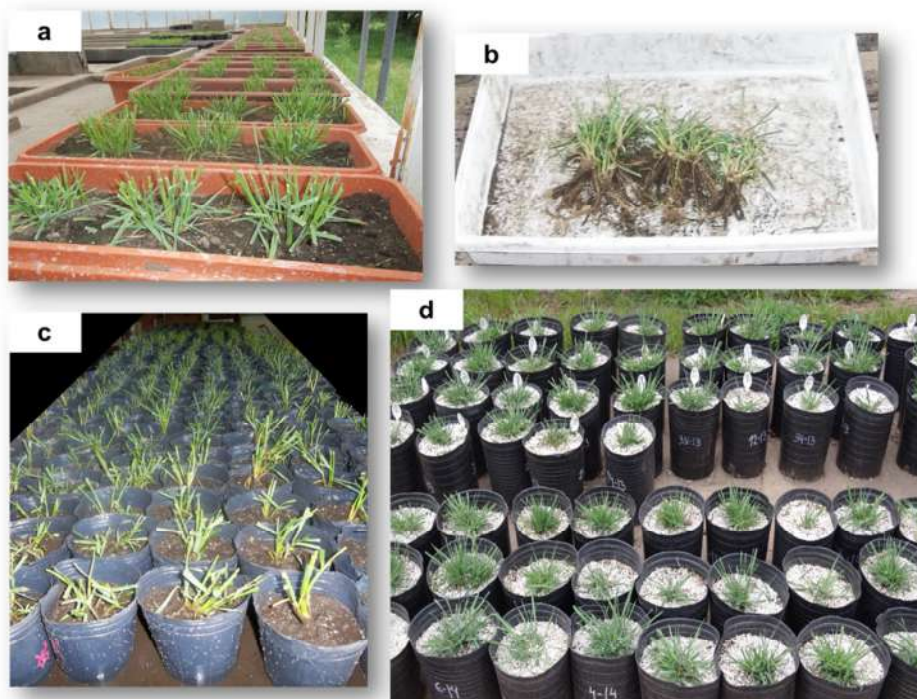


**Foto 2.1:** Imagen del sitio de colecta (punto rojo) de la población estudiada ( $37^{\circ}40'28.56''S$ ;  $58^{\circ}26'44.95''O$ ).

### 2. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico

## 2.1 Siembra y clonación

En marzo 2012 se realizó la siembra de 35 genotipos en vasos de 400cc con sustrato tierra:arena, los que fueron mantenidos en invernáculo sin calefacción. Entre el 15 de agosto y el 30 de octubre 2012 se realizaron numerosas clonaciones en diferentes tamaños de maceta (Foto 2.2) para obtener la cantidad necesaria de clones (propágulos) por genotipo a ser utilizados en los diferentes estudios de la presente tesis. Durante 2013 los clones fueron mantenidos en un invernáculo sin calefacción, fueron regados y fertilizados con nitrógeno (100 Kg/ha de urea) hasta lograr el estado de planta adulta, con un crecimiento de al menos 18 meses.



**Foto 2.2:** Diferentes momentos de la clonación realizada durante el año 2012. a) 1er. clonación: tres propágulos por maceta de 3,6l, b y c) 2da. Clonación: 15 propágulos en macetas de 1l. d) mantenimiento de plantas en macetas de 10l para su posterior clonación y trasplante a campo.

## 2.3 Trasplante y disposición a campo

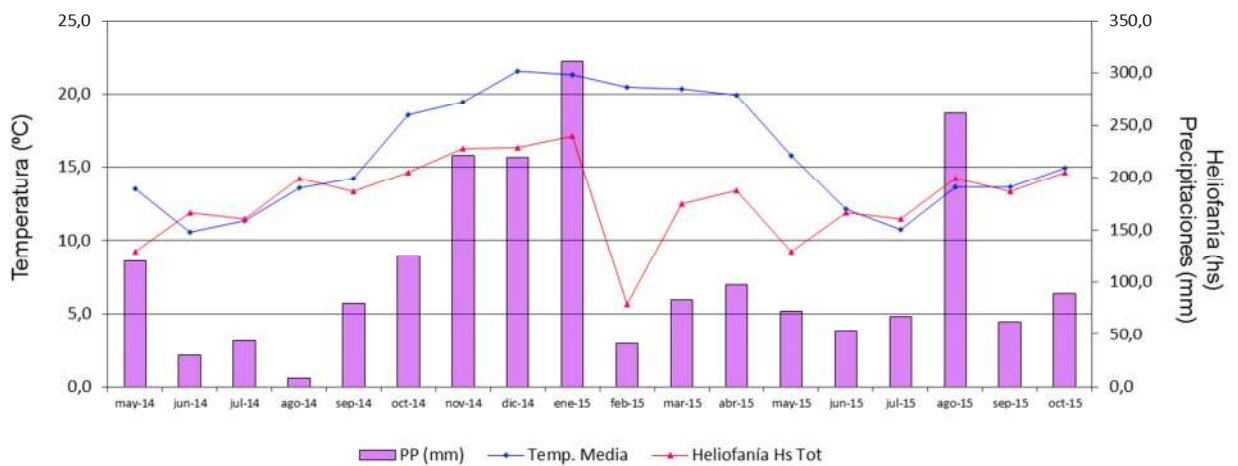
El 14 de mayo de 2014 los 35 genotipos adultos fueron trasplantados a campo en la EEA Pergamino ( $37^{\circ}40'28.56''S$ ;  $58^{\circ}26'44.95''O$ ) en suelo argiudol típico ( $pH=6,7$ ;  $CE= 1,6$  dS/m) serie Pergamino, y dispuestos en un ensayo de planta espaciada a 0,80 m entre plantas y entre hileras, utilizando un diseño en bloques completos al azar con tres



repeticiones (Foto 2.3), donde cada repetición estuvo compuesta por tres clones de cada genotipo (total: 315 plantas). En la Figura 2.1, se observan los datos meteorológicos correspondientes al periodo mencionado.



**Foto 2.3:** Disposición del ensayo a campo.



**Figura 2.1:** Datos meteorológicos desde mayo 2014 a octubre 2015. PP: precipitaciones (mm), Temp. Media: temperatura media (°C) y Heliofanía Hs Tot: suma de horas totales de sol.

### 2.3 Caracteres evaluados

Entre los meses de mayo 2014 a octubre 2015 se registraron 15 caracteres vegetativos y reproductivos por planta individual en diferentes momentos fenológicos (Tabla 2.1).

**Tabla 2.1:** Caracteres, abreviatura, unidad y fecha de evaluación por planta de los 35 genotipos.

Carácter	Abreviatura, Unidad	Fecha de Evaluación
Color (1: verde claro, 2: verde glauco, 3: verde oscuro)		06-11-14
Hábito de Crecimiento (1: postrado, 2: intermedio, 3: erecto)	HC (1-3)	06-11-14
Altura 1	Alt-1 (cm)	12-09-14
Altura 2	Alt-2 (cm)	29-09-14
Atura 3	Alt-3 (cm)	06-11-14
Altura 4	Alt-4 (cm)	15-07-15
Número de macollos	Nmac	12-09-14
Diámetro de mata	DM (cm)	15-07-15
Producción de Materia Seca	PS1 (g)	12-09-14
Producción de Materia Seca	PS2 (g)	15-07-15
Emergencia de espigas	IE (días)	Días desde 01/09
Altura a 100% Floración	AltF (m)	Altura 08-01-2015
Número de espigas	Nesp	Febrero 2015
Largo de espigas	Lesp (cm)	Febrero 2015
Peso de mil semillas	PMIL (g)	Febrero 2015
Peso total de semillas	PSEM (g)	Febrero 2015

Se consideraron **caracteres vegetativos** a los comprendidos desde el trasplante a campo (14/05/14) hasta inicio de la elongación de los macollos reproductivos. Se registraron según la siguiente descripción:

**Color de planta:** se registró en forma visual el color por planta, utilizando la siguiente escala: 1= verde claro; 2= glauco; 3= verde oscuro.



1= Verde Claro



2=Glauco



3=Verde Oscuro

**Hábito de crecimiento (HC):** definido como el ángulo que forma el canopeo de cada planta y la superficie del suelo, utilizando la siguiente escala: 1=postrado; 2=intermedio; 3=erecto.



1= Postrado



2= intermedio



3=erecto



**Altura de planta (Alt):** se realizaron cuatro mediciones, las tres primeras durante el año 2014 y la última en 2015. La Altura 1 se registró previo al primer corte de biomasa aérea; Altura 2 se registró a los 17 días posteriores del corte y se la consideró como “altura de rebrote”, Altura 3 a los 38 días luego del corte y Altura 4 fue previa al segundo corte. Las mediciones se realizaron en cm, con una regla graduada apoyada en el centro de cada planta hasta el extremo superior. **Número de macollos vegetativos (Nmac):** se realizó el conteo directo del número de macollos producido por cada planta. **Diámetro de mata (DM):** se realizó la medición del diámetro máximo sobre cada planta individual con una regla graduada, para ello se midió la distancia comprendida entre los extremos de las hojas más

largas de dos macollos opuestos. **Peso de la materia seca acumulada otoño/invierno 2014 (PS1):** el 12/09/14 se realizó la cosecha de la biomasa aérea acumulada de otoño/invierno. El corte se efectuó con hoz a una altura de corte de 6 cm (altura de puño) desde el nivel del suelo. Cada planta fue identificada y conservada en bolsas de papel tipo kraft, se secó en estufa de aire forzado (60°C) por un período de 48 hs, hasta lograr peso seco constante. Posterior al mismo se pesó en balanza Radwag WT200 (Máx 200g, d=0,001g). **Peso de la materia seca acumulada otoño/invierno 2015 (PS2):** el 15/07/15 se realizó la segunda cosecha de biomasa acumulada de otoño-principio de invierno y el procedimiento aplicado fue igual al anterior.

Los **caracteres reproductivos** fueron los comprendidos desde el momento del pasaje de estado vegetativo al reproductivo (inicio de elongación) hasta la cosecha de semillas. Se registraron de acuerdo a la siguiente descripción:

**Emergencia de espigas (IE):** se registró el número de días transcurridos desde el 01/09/2014 hasta la emergencia de la primera espiga por planta y se consideró indicativo de la fecha de floración. **Altura de planta al 100% de floración (AltF):** cuando se alcanzó el 100% de floración de todas las plantas (09/01/15), se registró en cm utilizando una regla graduada apoyada en el centro de cada mata hasta el extremo superior. **Número de macollos reproductivos (Nesp):** se realizó la cosecha de espigas mediante hoz. Cada planta fue puesta en bolsas de papel tipo kraft, trasladadas al gabinete y puestas a secar a temperatura ambiente. Cuando todas las plantas lograron una humedad inferior al 14% y previo a la trilla individual, se realizó el conteo directo del número de macollos reproductivos (número de espigas) por planta. **Largo de espiga (Lesp):** previo a la trilla individual, de cada planta se tomaron al azar tres espigas y mediante una regla graduada, se midió el largo desde la primera espiguilla hasta el extremo de la espiga en cm. **Peso de mil semillas (PMIL):** del total de semillas producido por planta se tomaron al azar tres muestras de 100 semillas puras, las que fueron pesadas en balanza de precisión Chyo Modelo MJ-300 (Máx=300g, d=0,001g). Se calculó el promedio de los 3 pesos de 100 semillas y el valor fue multiplicado por 10, a partir de allí se obtuvo el peso de 1000 semillas de cada planta en gramos. **Peso total de semillas (PSEM):** se realizó la trilla con una trilladora de cilindro dentado marca Allan Machine C.O. Modelo SVSRGI y cada planta trillada fue sometida a limpieza manual a través de las siguientes zarandas: 6/64" x 3/4", 5,5/64" x 3/4" y 1/14"x1/2", quitando así el material inerte (glumas, restos de raquis, etc) y las semillas vanas (vacías).

Las semillas obtenidas de cada planta fueron pesadas en balanza de precisión Chyo Modelo MJ-300 (Máx=300g, d=0,001g).

## 2.4 Análisis de la información

Los datos obtenidos fueron analizados a través de modelos lineales mixtos utilizando Infostat® en interfaz con R; este método permite comparar el comportamiento promedio de los genotipos para los diferentes caracteres, y se basa en la estimación de los componentes de varianza, por medio del estimador de máxima verosimilitud restringida (RELM) (Di Renzo *et al.*, 2012).

Para las variables cualitativas, se realizó un análisis descriptivo de frecuencias. Mientras que, para las variables cuantitativas, en primera instancia se realizaron los diagnósticos pertinentes para corroborar la distribución normal de los residuos y homogeneidad de varianza residual, dado que los modelos mixtos se basan en el supuesto de que los efectos aleatorios y los errores son independientes y se distribuyen normalmente (Balzarini *et al.*, 2015). En el caso que alguno de estos supuestos no se cumplió, se procedió a corregir la falta de los mismos a través de la modelación de los datos, en el marco teórico de los modelos lineales mixtos, eligiendo para cada variable el modelo que menor valor de AIC y BIC presentó. Este procedimiento se aclaró en los caracteres que fue necesario realizar la modelación de los datos.

Una vez corroborados los supuestos se procedió a realizar el análisis de variancia, la estimación de sus componentes, la comparación de medias y por último se realizaron los análisis multivariados necesarios. A continuación, se detalla cada uno de los análisis.

### 2.4.1 Análisis de variancia entre genotipos

Con el fin de analizar la significancia de las variancias de los diferentes caracteres entre los genotipos se realizaron análisis inter-genotipos para cada carácter.

Se utilizó un modelo de bloques completos aleatorizado:

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  es la variable dependiente (el carácter en estudio),

$\mu$  es la media general,

$\pi_i$  representa el componente de variancia debido a poblaciones,

$\beta_j$  es el componente de variancia debido a bloques y

$\varepsilon_{ij}$  es el componente de variancia debida al error experimental.

Luego de realizar este análisis con el objetivo de detectar cuales genotipos difirieron significativamente en la media de los caracteres evaluados, se realizó la *prueba t* para la diferencia mínima significativa (LSD, “*least significance difference*”).

#### 2.4.2 Estimación de componentes de variancia

Los componentes de variancia para cada variable se estimaron a partir de los modelos lineales mixtos del paquete estadístico Infostat® en interfaz con R (Di Renzo *et al*, 2012). Los genotipos y las repeticiones se consideraron como efectos aleatorios, de este modo se obtuvieron los parámetros de los efectos aleatorios: desvíos y correlaciones.

$$\sigma_g^2 = (\delta_g)^2$$

$\sigma_g^2$  = Variancia genética

$$\sigma_e^2 = (\delta_e)^2$$

$\sigma_e^2$  = Variancia ambiental

$$\sigma_f^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2$$

$\sigma_f^2$  = Variancia fenotípica

#### 2.4.3 Estimación del grado de determinación genética (GDG)

La heredabilidad en sentido amplio o grado de determinación genética expresa la variabilidad genética potencial (Falconer, 1989). Una vez obtenidos las estimaciones de los componentes de variancia a partir del análisis de variancia, se estimó el GDG (Burton, 1952; Burton y De Vane, 1953; Shing *et al*, 1993):

$$GDG = \sigma_g^2 / \sigma_f^2$$

También se calcularon los coeficientes de variación genética ( $CV_g$ ) y fenotípica ( $CV_f$ ) (Burton y De Vane, 1953; Singh y Chaudhary, 1979) de la siguiente manera:

$$CV_g = (\sigma_g / \mu) * 100$$

$$CV_f = (\sigma_f / \mu) * 100$$

En forma conjunta el coeficiente de variación genética y la estimación de la heredabilidad de un carácter es indicativo del potencial para efectuar selección en la población analizada (Burton y De Vane, 1953).

#### **2.4.4 Estimación de la correlación fenotípica**

La asociación entre dos caracteres puede explicarse tanto por efectos genéticos como por efectos ambientales o por ambos, las causas ambientales de la asociación de los valores fenotípicos pueden acentuar o atenuar los causales genéticos de la correlación (Mariotti, 1986). La asociación entre dos caracteres que pueden ser directamente observados se determina a través de la medición de ambos caracteres en un número de individuos de la población, esto se realiza para conocer el grado de asociación entre los mismos para ser utilizados en futuros procesos de selección. En el presente estudio se realizó la correlación fenotípica a través del paquete estadístico Infostat® mediante el coeficiente de correlación de Pearson, el cual mide la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales y asume valores en el intervalo [-1;1] y el signo indica la dirección de la asociación. Solo se discutirán aquellas correlaciones fenotípicas significativas ( $p < 0,05$ ) consideradas de mayor importancia desde el punto de vista de un programa de mejoramiento.

#### **2.4.5 Análisis Multivariado**

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis multivariado con el objeto de detectar diferencias y/o similitudes entre los genotipos (Crisci y Lopez Armengol, 1983). Los análisis aplicados fueron: Análisis de Componentes Principales y Análisis de Conglomerados Jerarquizado (Cluster), a través del paquete estadístico Infostat®.

El Análisis de Componentes Principales (ACP) se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo de este análisis es poder condensar la información obtenida, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad posible.

Por su lado el Análisis de Conglomerados Jerarquizado o Cluster es una técnica de agrupamiento que se basa en las similitudes o distancias entre las observaciones o variables para ello se utilizó como medida de distancia la distancia euclídea. Los resultados del agrupamiento se pueden observar a través de un dendrograma y el método empleado



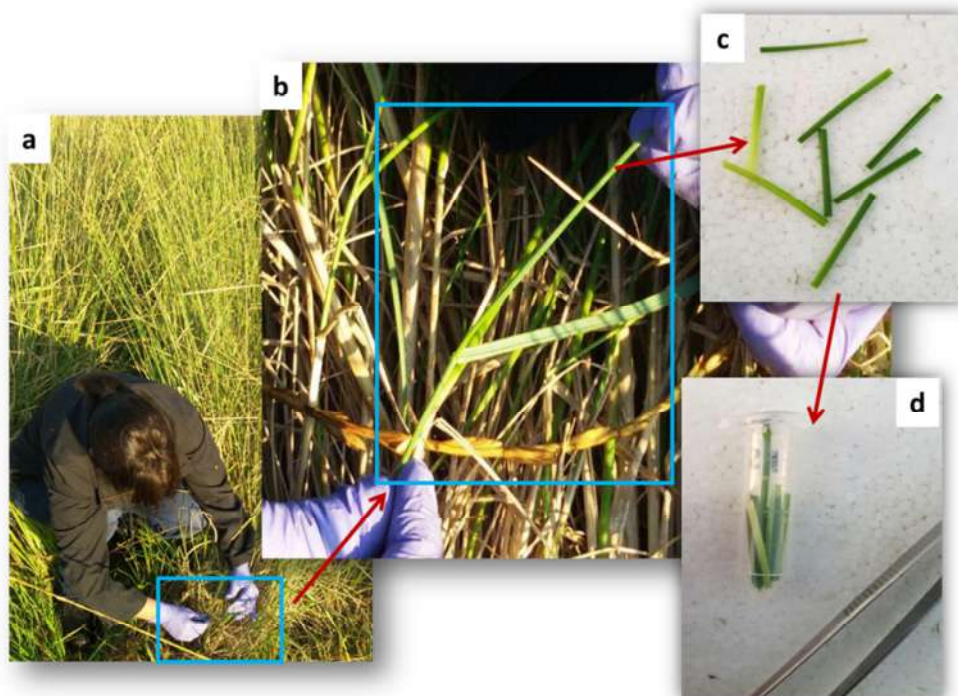
UPGMA “*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*” o “Método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada”.

### 3. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular

La caracterización de la variabilidad genética a nivel molecular, se realizó en los 35 genotipos, dada la ausencia de microsatélites (SSR) propios de la especie se utilizaron de otras especies poáceas: *Lolium perenne*, *Triticum aestivum*, *Schedonorus arundinaceus*. *Bromus catharticus*.

#### 3.1. Puesta a punto de la extracción y amplificación de ADN

Se realizó la puesta a punto de la extracción de ADN en agropiro alargado en tejido verde fresco extraído de rebrotes jóvenes y en activo crecimiento. El muestreo de tejido de cada genotipo se realizó a campo y fue conservado en microtubos de 2 ml, los que se colocaron en nitrógeno líquido dentro de una conservadora y trasladados a laboratorio para su procesamiento inmediato (Foto 2.4).



**Foto 2.4:** a) y b) Toma de muestra de brotes en activo crecimiento, c) y d) corte y acondicionamiento en microtubos de 2ml.



En primera instancia se aplicaron los protocolos de extracción de Puecher *et al.*, (2001) y Kleinhofs *et al.*, (1993) sin obtener buenos resultados. Finalmente se aplicó el protocolo de Shagai-Marroof modificado Pérez de la Torre *et al.*, (2008) con algunas modificaciones para agropiro alargado, que se mencionan a continuación:

### **3.1.1. Extracción de ADN**

#### **A-Liberación del ADN total de la estructura celular**

1. Colocar una hoja fresca (100mg de tejido verde) en microtubos de 2ml y estos dentro de nitrógeno líquido (N<sub>2</sub>), dejarlos unos minutos para que se congelen. Moler las muestras sin que se descongelen, con un vástago de punta cónica (ser cuidadosos). Como alternativa para más material se puede utilizar mortero (Foto 2.5), se agrega la muestra + N<sub>2</sub> líquido se muele, luego se agrega el buffer en dos veces.
2. Se prepara la cantidad de buffer suficiente para todas las muestras y se agrega al buffer caliente (65°C) el BME 140mM (este no se autoclava).
3. Se agrega 1000µl de buffer de extracción (sin CTAB y a 65°C) en dos veces dentro del mortero (como se explicó en paso 1). Se colecta la pasta que se forma colocándolo en cada tubo de 2 ml (Foto 2.5).
4. Incubar en baño térmico las muestras a 65°C durante 10 minutos.
5. Agregar el CTAB (10% de stock) a concentración final del 1% (para volumen final de buffer es 100ul de CTAB)
6. Incubar a 65°C durante 45 minutos con 3 inversiones cada 15 minutos.

#### **B-Lavado con Cloroformo: Alcohol Isoamilico para remover el CTAB**

7. Agregar 1 Volumen de 24:1 (v/v) mezcla de cloroformo alcohol isoamilico, separación de fases. Mezclar suavemente mediante inversiones durante 10 minutos entre gradillas. LIBERAR VAPORES
8. Centrifugar durante 30 minutos a 12000 rpm a 2°C.
9. Trasvasar la fase acuosa superior a un tubo de 2 ml. (PRIMER RECAMBIO)
10. Agregar 1 V de la 24:1 (v/v) mezcla de cloroformo alcohol isoamilico, separación de fases. Mezclar suavemente mediante inversiones durante 10 minutos entre gradillas. LIBERAR VAPORES

11. Centrifugar durante 30 minutos a 12000 rpm a 2°C.
12. Trasvasar la fase acuosa superior en un tubo de 1,5ml. (SEGUNDO RECAMBIO)

### C-Precipitación

13. Precipitar el ADN con 600µl de isopropanol frío. Mezclar suavemente mediante inversiones entre gradillas (se puede mantener over night).
14. Centrifugar 20 minutos a 12000 rpm a 2°C
15. Descartar sobrenadante

### D-Lavado del Pellet

16. Agregar 500µl de etanol 70%, a temperatura ambiente, mover por las paredes.
17. Centrifugar a 10 minutos a 12000 rpm a temperatura ambiente.
18. Descartar el sobrenadante y realizar el segundo lavado con etanol al 70%.
19. Centrifugar a 10 minutos a 12000 rpm a temperatura ambiente y descartar el sobrenadante.
20. Dejar secar el pellet hasta evaporación total del etanol (tubos abiertos a temperatura ambiente over night)

### RESUSPENSIÓN

21. Resuspender el ADN TE 1X 100 µl hasta disolver. NO UTILIZAR VORTEX PARA MEZCLAR.
22. CUANTIFICAR LUEGO DE 24-48hs desde la resuspención.

### Buffer de extracción

Stock	[Final]	1X (900ul)
1 M Tris (pH 8)	100 mM	90 ul
5 M ClNa <sup>1</sup>	700 mM	126 ul
0,5 M EDTA <sup>2</sup> (pH=8)	50 mM	90 ul
14 M B-mercaptoetanol	140 mM (1% v/v)	9 ul**
Agua deionizada		495ul
CTAB <sup>3</sup> (10%)	1% (v/v)	90ul

<sup>1</sup>. las sales aumentan el poder iónico de la solución y ocasionan la precipitación del ADN en presencia de alcohol

<sup>2</sup>. Agente quelante de iones metálicos como Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>. Inhibe la acción de nucleasas al no

haber cofactores libres para su actividad.

<sup>3</sup>. cetil methylammonium bromide.

### Buffer TE

Stock	[Final]
1 M Tris (pH=8)	10 mM
0,5 M EDTA (pH=8)	1mM

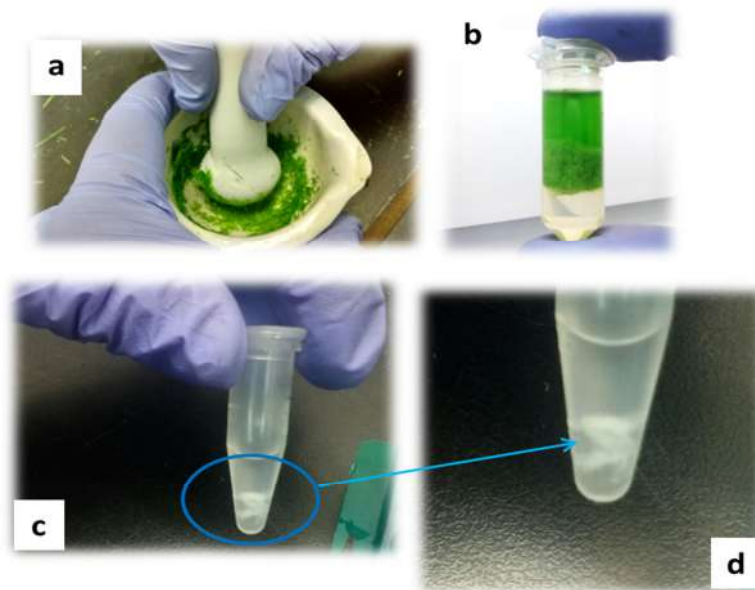


Foto 2.5: Extracción de ADN: a) molienda, b) extracto, c) y d) pellet de ADN.

### 3.1.2. Cuantificación y Dilución de ADN

Se cuantificó el ADN extraído, en forma visual sembrando 2 $\mu$ l de ADN y 8 $\mu$ l de BPB (Azul de bromofenol) en geles de agarosa 0,8 % con bromuro de etidio (0,1 $\mu$ g/ $\mu$ l). Se compararon con muestras de ADN de concentración conocida y se visualizaron mediante transiluminador de luz ultravioleta. Una vez cuantificadas las muestras del ADN extraído se procedió a realizar las diluciones de trabajo con TE 1/10 (1:Tris 10:EDTA) , llegándose a una concentración final de 10 ng/ $\mu$ l.

### 3.1.3. Amplificación del ADN

Se realizó la puesta a punto de las técnicas de SSR, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). A los fines de ajustar la técnica se tomaron al azar cinco genotipos, y un testigo correspondiente a la especie a la cual pertenecía el SSR que se utilizó. Los 33 SSR que se probaron se detallan en la Tabla 2.2, todos fueron SSR públicos pertenecientes a las siguientes especies: 15 SSR de *Lolium perenne* L. (Jones *et al.*, 2001), 11 SSR de

*Schedonorus arundinaceus* (Saha *et al.*, 2004, 2006), 5 SSR de *Triticum aestivum* (Röder *et al.*, 1998; Song *et al.*, 2002; <https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>) y 2 de *Bromus catharticus*. (Ramakrishnan *et al.*, 2004).

**Tabla 2.2:** Descripción de primers tentativos utilizados para la determinación de variabilidad genética a nivel molecular.

Número	Identificación	Primer	Secuencia
<b>RAIGRÁS (<i>Lolium perenne</i>)</b>			
1	LPH01A02	F	AAAGACCGCATACGAAGT
		R	AACCAAAGCCTCAAGACA
2	LPH01A07	F	TGGAGGGCTCGTGGAGAAGT
		R	CGGTTCCCACGCCTTGC
3	LPH01A10	F	GAGGCACCGGCCATGGAG
		R	AGGACGAGCCACTCACTTG
4	LPH01D09	F	CAAGTGCCACCATAGATACAA
		R	CGTGAAGATCACTATAAACACGA
5	LPH01E10	F	CGCAGCTTAATTTAGTC
		R	GCTTTGAGTATGTAAAGTT
6	LPH01F02	F	TCGTTGGGTCCTTCTGGAT
		R	TCGGGTGATGATGTTGACTT
7	LPH01H06	F	ATTGACTGGCTTCCGTGTT
		R	CGCGATTGCAGATTCTTG
8	LPH02C11	F	TGGAATAACGATGAAAAG
		R	CATCACGAATTAACAAGAG
9	LPK01A1	F	CGGCCACCCTTGATAGAG
		R	TCGTCAAGGATCCGGAGA
10	LPK01A03	F	GGACGAACTGCCGAGACA
		R	CGGGCATGGTGAGAAGGA
11	LPSSRH03F03	F	CAGGGGTTACAAGGATGG
		R	ACCGTCCCATAGGTTTGT
12	LPSSRK02E02	F	CGCGTCAGTTCTTCACCACC
		R	ATGCAGCAGGGCTCAAAGTC
13	LPSSRK02E08	F	TCTGAAAGCCCGAGTGAGCG
		R	CGACTGTGGCAGGGATGACG
14	LPSSRK03B03	F	GGAATCTGGCAGAAGTATCACGT
		R	GAAGATCTGGCCAAGTCTAATCCG
15	LPSSRK10H05	F	AAGGAGACCTGGCAGCTTGGTGCT
		R	CGACAAAGGTTACAATGGAGGAG
<b>FESTUCA (<i>Schedonorus arundinaceus</i>)</b>			
16	NFFa002	F	ACCAAGTCGTCCAAGTCAGC
		R	GCTCCAGCTTCTCCATCATC

17	NFFa015	F	AGCAAGGCCAGCAAAAATTA
		R	GCGTCCACTAACAAACACCAA
18	NFFa019	F	GCTCGTGTATGGCCTTCAAT
		R	TGGATTTGCAATTAGCCTCA
19	NFFa023	F	TACAAGTAGGGGGCTGGTCA
		R	AGTCGGTGGTGAAGCTGAAG
20	NFFa024	F	AGCTTCCCCTTCATTCCACT
		R	TGCCACGAGGTCTATCTTC
21	NFFa031	F	GCTGTAGACTCAGCCGAACC
		R	ACGGTCTGTACCGTGGATGT
22	NFFa034	F	CTCCTTTCCATCACCTCTGG
		R	GCTGGGTGTAGGGCTGTAAA
23	NFFa036	F	CCCTGGTACTCGTGGATGTT
		R	AGAGGAAGAGCGAAAGAGCA
24	NFFa058	F	CAAACCAGGTGGCAGATTT
		R	CATCTACCGTCGCTTCACC
25	NFFa061	F	GCTCGTGTATGGCCTTCAAT
		R	TGGATTTGCAATTAGCCTCA
26	NFFa066	F	CAACCTCCTCCACCATCTTG
		R	CTCCCCGTCTTCATCT
<b>TRIGO (<i>Triticum aestivum</i>)</b>			
27	WMC043	F	TAGCTCAACCACCACCCTACTG
		R	ACTTCAACATCCAAACTGACCG
28	WMS135	F	TGTCAACATCGTTTTGAAAAGG
		R	ACACTGTCAACCTGGCAATG
29	xgwm319	F	GGTTGCTGTACAAGTGTTACG
		R	CGGGTGCTGTGTGTAATGAC
30	WMS637	F	AAAGAGGTCTGCCGCTAACA
		R	TATACGGTTTTGTGAGGGGG
31	WMS674	F	TCGAGCGATTTTTCTGC
		R	TGACCGAGTTGACCAAACA
<b>CEBADILLA (<i>Bromus catharticus</i>)</b>			
32	Bt05	F	GGGAAAGCAAGCCGTTTCCGCGTTG
		R	CGGTGGACGACGGGAAAGCGGAGCA
33	Bt33	F	CTGCTATATCATGAGGCCATTGGGA
		R	AGTTTGTACAGCAGCCTGAGGCATG

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un volumen de 20 µl, usando 3µl de ADN genómico (20 ng/µl), 2 µl de buffer de PCR 10x, 1,5 µl de Cl<sub>2</sub>Mg (50mM), 0,5 µl de cada uno de los dos primers SSR (5 µM), 0,3 µl de los cuatro dNTP (10mM), 0,4 µl de la enzima Taq ADN polimerasa (invitrogen) y 10,9 µl de agua (calidad HPLC) para completar el volumen.

## Mix PCR

	Concentración final
<b>Primer (F+R)</b>	<b>10<math>\mu</math>M</b>
<b>TAQ pol (Invitrogen™)</b>	<b>0,75 U/<math>\mu</math>l</b>
<b>ADN</b>	<b>20 ng/<math>\mu</math>l</b>
<b>Buffer</b>	<b>10X</b>
<b>Cl<sub>2</sub>Mg</b>	<b>1,5mM</b>
<b>dNTP</b>	<b>2mM</b>
<b>H<sub>2</sub>O ultrapura</b>	

Se utilizó un programa estándar para la prueba de los SSR, en termociclador MJ Research PTC-100, utilizándose el programa *touch-down*, que denominaremos Ciclo Touch Down

- Temperatura inicial de desnaturalización de 94°C, durante 5 minutos
- Ciclos: (15)
  - ❖ Desnaturalización 94°C, 30 segundos
  - ❖ Temperaturas de hibridación con un gradiente de temperatura comenzando a 65°C y finalizando a 50°C después de los 15 ciclos (-1°C/ciclo)
  - ❖ Extensión 72°C, 30 segundos cada ciclo
- Ciclos: (35)
  - ❖ Desnaturalización 94°C, 30 segundos
  - ❖ Temperaturas de hibridación de 55°C durante 30 segundos cada ciclo
  - ❖ Extensión 72°C, 30 segundos cada ciclo
- Extensión: 72°C, 10 minutos
- Final 4°C

Los SSR que no amplificaron con la temperatura de hibridación o *annealing* de este programa, se procedieron a amplificar con la temperatura obtenida a partir del siguiente cálculo (Rybicki, 2005. <http://www.mcb.uct.ac.za/manual/MolBiolManual>):

$$T_m: 4(G+C) + 2(A+T)$$

Donde:

T<sub>m</sub>: temperatura de fusión o melting (temperatura of melting)

G: cantidad de bases de Guanina

C: cantidad de bases de Citosina

A: cantidad de bases de Adenina

T: cantidad de bases de Timina

Para aquellos SSR que no amplificaron con ésta T<sub>m</sub>, se siguió ajustando estimando la T<sub>m</sub> para cada primer dentro de cada SSR y al menor valor de los dos se le redujo 5°C (Innis y Gelfand, 1990). Este ajuste de temperatura se realizó en un Veriti™ 96-Well Thermal Cycler, ajustando de este modo la T<sub>m</sub>.

Para la puesta a punto de las amplificaciones también se probó con cada temperatura estimada diferentes concentraciones de los componentes de la Mix PCR. Variando la concentración del Cl<sub>2</sub>Mg desde 1,5 mM hasta 2 mM, la concentración de primers desde 0,5µM hasta 1,5µM y la concentración de TAQ desde 0,5U a 0,9U. Ajustándose así las concentraciones de trabajo, las reacciones de amplificación finales se realizaron en un volumen final de 20 µl en placas de 96 wells para PCR en las concentraciones que se mencionadas.

Asimismo, cuando los patrones de banda no eran claros, se hicieron pruebas ajustando otros ciclos de amplificación aplicado en festuca según Cuyeu, 2008 que donominaremos Ciclo Festuca:

- Temperatura inicial de desnaturalización de 94°C, durante 5 minutos
  - ❖ Desnaturalización 94°C, 1 minuto
- Ciclos: (40)
  - ❖ Desnaturalización inicial 94°C, 30 segundos
  - ❖ Temperaturas de hibridación 60°C, 1 minuto

❖ Extensión 72°C, 2 minutos

- Extensión final: 72°C, 5 minutos
- Final 4°C

Para los primers correspondiente a trigo se utilizó el ciclo festuca pero con 35 ciclos (más corto) en vez de 40 ciclos, denominado Ciclo Trigo.

#### **3.1.4. Preparado de vidrios, corrida, tinción y revelado**

La separación de los productos de amplificación se realizó en geles desnaturalizantes de poliacrilamida 6% (19:1 acrilamida: bis-acrilamida) de 0,4 mm de espesor, mediante electroforesis vertical en cubas de secuenciación (Sequi-Gen® GT Nucleic Acid Electrophoresis Cell, BioRad). Los geles y armado de la cuba se realizaron según especificaciones de BioRAD. En cada gel se sembró 3 µl de los productos de amplificación y 25 individuos por población por SSR para realizar el análisis de la misma.

La corrida electroforética se realizó a 55 Watts, el tiempo de duración de la corrida se adecuó al peso molecular (PM) estimado del SSR obtenido de Jones *et al.*, 2001. En cada corrida se utilizaron como marcadores de peso molecular DNA Step Ladder DNA (Invitrogen™ 25 pb) para estimar el peso molecular de los alelos presente en los SSR utilizados para los diferentes individuos. Una vez finalizada la corrida se realizó el revelado de las bandas mediante la tinción con plata siguiendo el Protocolo de Tinción con Nitrato de Plata para Secuenciación de Promega Corp. Efectuado el revelado se procedió a evaluar manualmente los tamaños de pares de base de los alelos presentes, utilizando un transiluminador de luz blanca considerando los diferentes tamaños de bandas amplificados como diferentes alelos.

#### **3.2. Análisis estadístico de los resultados**

Se realizó el análisis estadístico de los datos con el fin de cuantificar la variabilidad genética, mediante la existencia de polimorfismos. El programa estadístico utilizado fue InfoGen versión 2016 (Balzarini y Di Renzo, 2016). En primera instancia se realizó la estadística descriptiva para los marcadores utilizados.



### 3.2.1. Matriz Básica de Datos (MBD)

Se consideraron los 35 genotipos de la población en estudio. A partir de los alelos identificados de los 15 SSR utilizados, se construyó una Matriz Básica de Datos (MBD) computando la frecuencia relativa de presencia/ausencia de banda o alelo por SSR, mediante 1 y 0 respectivamente.

### 3.2.2. Matriz de distancia genética

El grado de asociación o relación genética entre los genotipos se estableció mediante la distancia genética de Prevosti (Prevosti, 1974, citado por Wrigth, 1978) también conocida como distancia genética de Gregoriosis (Gregoriosis, 1974, 1984):

$$d_{ij} = \frac{1}{p} \sum_{k=1}^p \sum_{l=1}^q |x_{ikl} - x_{jkl}|^2$$

Donde  $d_{ij}$  es la medida de distancia genética entre unidades  $i$  y  $j$ , basadas en las frecuencias alélicas (relativas) correspondientes a  $p$  loci cada uno de ellos con  $q$  alelos.  $k=1, 2, \dots, p$  y  $l=1, 2, \dots, q$ . Esta distancia se eligió por simplicidad, por ser una distancia euclídea lo que garantiza su representación en un espacio cartesiano y por poseer resultados altamente satisfactorios para ser aplicada en marcadores multialélicos (demostrados en estudios de simulación Carbonell *et al*, 2002, 2003). Los datos fueron analizados mediante el programa NTSYS (Numerical Taxonomic System, ver. 2.11) (Rohlf, 2002).

### 3.2.3. Análisis Multivariados

A través de análisis multivariado como el método de ordenamiento y el método de clasificación, se trató de establecer la existencia de patrones de estructuración de los genotipos, como así también el método para consensuar los datos moleculares con los datos agronómicos. De esta forma el conjunto de resultados obtenidos a través del análisis multivariado permitió tipificar los genotipos y establecer relaciones entre ellos. Los análisis se realizaron a través de InfoGen/P v.2016 (Balzarini y Di Renzo, 2016).

### 3.2.3.1. Análisis de Ordenamientos. Análisis de Coordenadas Principales

El objetivo de este análisis es poder concentrar la información obtenida, en unas pocas coordenadas principales que expliquen la mayor variabilidad posible. El Análisis de Coordenadas Principales (Gower, 1966) es un método adecuado para variables cualitativas y se realizó a partir de la matriz de distancia genética entre poblaciones transformándola mediante multiplicación (-1) y sumando (1), obteniendo así la matriz de similitud, y con esta se realizó el consiguiente análisis. Los análisis se realizaron con NTSYS (Numerical Taxonomic System, ver. 2.11) (Rohlf, 2002).

### 3.2.3.2. Análisis de Agrupamiento. Análisis de Cluster

Para ordenar, clasificar y agrupar las poblaciones según su caracterización molecular, se partió de la matriz de distancia genética donde  $d_{ij}$  midió el grado de asociación entre poblaciones. Fueron reveladas mediante el método jerarquizado de promedios aritméticos no ponderados entre grupos por pares (“Unweighted Pair Group Arithmetic Average”) (Sneath y Sokal, 1973). El algoritmo utiliza como regla de jerarquización la minimización de la distancia genética entre grupos, definida como el promedio aritmético no ponderado entre un grupo  $i$  de  $m$  individuos y otro grupo  $j$  de  $n$  individuos:

$$m \quad n$$

$$d_{ij} = \frac{1}{m+n} \sum_{h=1}^m \sum_{l=1}^n d(ih, jl)$$

donde el  $h^{mo}$  y el  $l^{mo}$  individuo pertenecen al  $i^{mo}$  y  $j^{mo}$  grupo respectivamente.

### 3.2.3.3. Coeficiente de Correlación Cofenética

Para medir la distorsión ocasionada en el manejo de los datos durante la construcción de los dendrogramas se utilizó el Coeficiente de Correlación Cofenética (CCC) propuesto por Sokal y Rohlf (1981).

## 4. Análisis conjunto de la Caracterización Agronómica y la Caracterización Molecular

El objetivo de realizar el análisis conjunto de los caracteres morfológicos y moleculares fue determinar las posibles relaciones existentes entre ambos en aquellas poblaciones que se analizaron con ambas caracterizaciones. Para ello se realizó el análisis de procrustes generalizado.

El Análisis de Procrustes Generalizados (Gower, 1975) permitió utilizar para cada tipo de variable una medida de distancia y un método de ordenación particular, obteniendo tantas configuraciones de individuos como fueran necesarias, para luego promediarlas en una única configuración denominada configuración de consenso (Bramardi, 2000). De esta forma se obtuvo un dato consenso entre los datos moleculares y los agronómicos para cada genotipo, como también su dispersión desde el punto consenso. Los datos fueron analizados a través de InfoGen/P v.2016 (Balzarini y Di Renzo, 2016).

## RESULTADOS

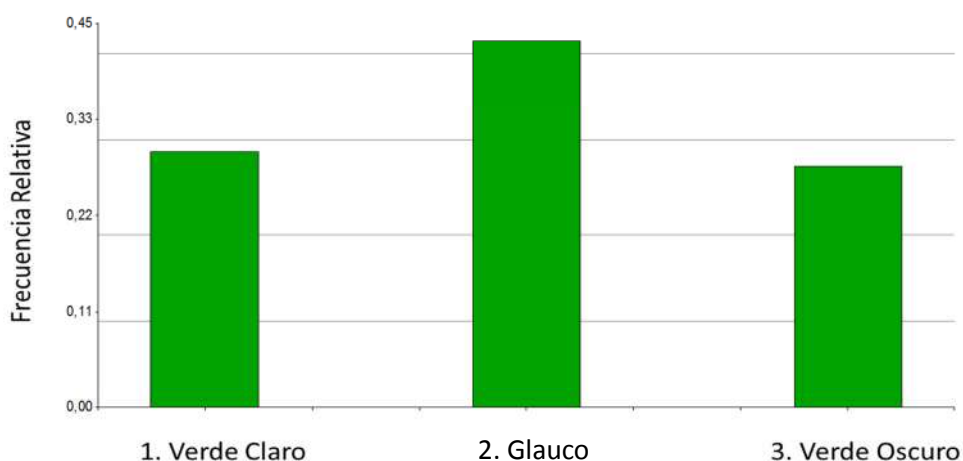
### 1. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico

A continuación, se presentan los resultados del estudio a nivel morfológico en los caracteres vegetativos y reproductivos. En los caracteres cualitativos como color y hábito de crecimiento se analizaron las distribuciones de frecuencias relativas de las distintas clases dentro de la población evaluada. En la Tabla 2.3 se presenta la estadística descriptiva promedio de los 35 genotipos para todas las variables. Mientras que en la Tabla 2.4 se presenta la estadística descriptiva promedio de los 35 genotipos de agropiro alargado para los caracteres vegetativos. En términos generales existieron diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) para todas las variables analizadas.

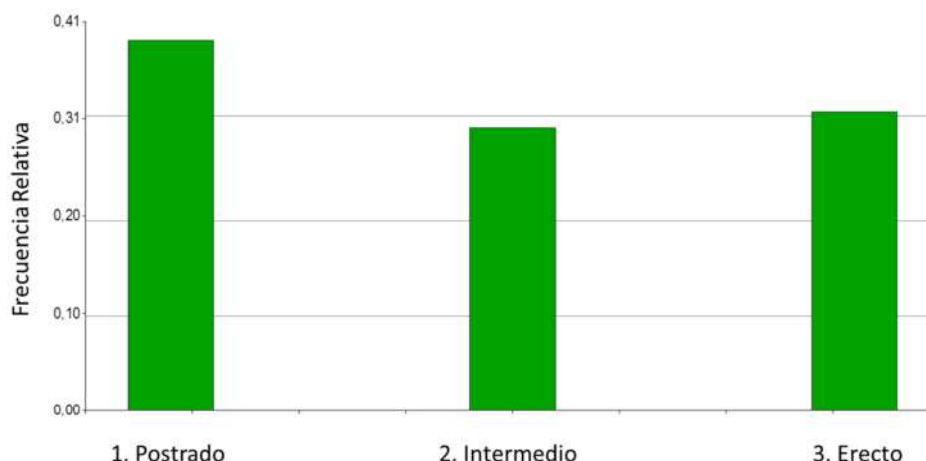
#### 1.1. Caracteres evaluados

- **Color de planta y Hábito de crecimiento**

El color (figura 2.2) mostró mayor porcentaje de plantas color glauco (42%), seguido de un color verde claro (30%) y color verde oscuro (28%). El hábito (figura 2.3) mostró mayor frecuencia de plantas (37%) postrada, seguido por erectas (33%) y el menor porcentaje fue intermedio (28%).



**Figura 2.2:** Histograma de las distintas clases para el carácter color (1=verde claro; 2=glauco; 3=verde oscuro).



**Figura 2.3:** Histograma de las distintas clases para el carácter hábito de crecimiento (1= postrado; 2= intermedio; 3= erecto).

**Tabla 2.3:** Comportamiento promedio de los 35 genotipos para todos los caracteres. Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), Mínimo (Mín), Máximo (Máx). Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS), emergencia de espiga (IE), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

Variable	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Alt 1 (cm)	25,5	5,5	21,6	10,0	39,0
Alt 2 (cm)	20,3	5,2	25,5	5,5	33,5
Alt 3 (cm)	54,9	14,5	26,4	11,0	84,0
Alt 4 (cm)	38,0	8,3	21,7	16,0	72,0
Nmac	53,2	28,3	53,2	6,0	136,0
DM (cm)	67,0	12,9	19,3	24,0	105,0
PMS1 (g)	5,5	3,0	54,1	0,2	21,2
PMS2 (g)	21,4	11,8	55,3	2,0	61,0
IE (días)	100	6,21	6,21	76	111
AltF (m)	1,41	0,18	12,76	0,89	1,89
Nesp	53,66	26,94	50,20	1,00	134,00
Lesp (cm)	28,61	5,10	17,82	15,90	43,27
P1000 (g)	6,20	1,04	16,75	3,40	9,64
PSEM (g)	12,68	7,84	61,84	0,06	39,22

**Tabla 2.4:** Medias aritméticas de los caracteres vegetativos para cada genotipo  $\pm$  error estándar ( $\pm$  E.E). Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS). Comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Genotipo	Altura (cm)				Nmac	DM(cm)	PMS (g)	
	1°	2°	3°	4°			1° corte	2° corte
1	32,28 $\pm$ 1,42	24,61 $\pm$ 1,62	65,72 $\pm$ 3,55	42,13 $\pm$ 2,46	79,78 $\pm$ 9,67	75,38 $\pm$ 4,04	7,99 $\pm$ 0,91	31,75 $\pm$ 4,15
2	25,17 $\pm$ 1,42	21,83 $\pm$ 1,62	65,28 $\pm$ 3,55	43,44 $\pm$ 2,34	55,56 $\pm$ 9,67	71,22 $\pm$ 3,86	4,64 $\pm$ 0,91	26,78 $\pm$ 3,95
3	19,94 $\pm$ 1,42	14,17 $\pm$ 1,62	25,2 $\pm$ 4,68	39,67 $\pm$ 3,84	32,44 $\pm$ 9,67	63,33 $\pm$ 6,19	1,45 $\pm$ 0,91	16,67 $\pm$ 6,50
4	26,61 $\pm$ 1,42	21,61 $\pm$ 1,62	46,06 $\pm$ 3,55	40,11 $\pm$ 2,34	60,22 $\pm$ 9,67	68,22 $\pm$ 3,86	5,72 $\pm$ 0,91	21,22 $\pm$ 3,95
5	26,61 $\pm$ 1,42	26,06 $\pm$ 1,62	71,28 $\pm$ 3,55	46 $\pm$ 2,34	91,11 $\pm$ 9,67	72,22 $\pm$ 3,86	6,81 $\pm$ 0,91	30,67 $\pm$ 3,95
6	23,67 $\pm$ 1,42	21 $\pm$ 1,62	60,28 $\pm$ 3,55	33,67 $\pm$ 2,34	68,22 $\pm$ 9,67	69,11 $\pm$ 3,86	5,81 $\pm$ 0,91	26,44 $\pm$ 3,95
7	25,89 $\pm$ 1,42	18,83 $\pm$ 1,62	50,06 $\pm$ 3,55	38,75 $\pm$ 2,46	59,11 $\pm$ 9,67	68,38 $\pm$ 4,04	4,72 $\pm$ 0,91	17,88 $\pm$ 4,15
8	27,11 $\pm$ 1,42	23,06 $\pm$ 1,62	59,89 $\pm$ 3,55	34,89 $\pm$ 2,34	59,78 $\pm$ 9,67	65,56 $\pm$ 3,86	6,01 $\pm$ 0,91	17,11 $\pm$ 3,95
9	16,39 $\pm$ 1,42	14,22 $\pm$ 1,62	35,67 $\pm$ 3,55	29,67 $\pm$ 2,34	33,22 $\pm$ 9,67	55,67 $\pm$ 3,86	3,44 $\pm$ 0,91	18,11 $\pm$ 3,95
10	24,78 $\pm$ 1,42	19,17 $\pm$ 1,62	50,39 $\pm$ 3,55	34,5 $\pm$ 2,46	60,44 $\pm$ 9,67	56,5 $\pm$ 4,04	7,9 $\pm$ 0,91	23,63 $\pm$ 4,15
11	29,61 $\pm$ 1,42	22 $\pm$ 1,62	60,28 $\pm$ 3,55	43,22 $\pm$ 2,34	75,78 $\pm$ 9,67	86,22 $\pm$ 3,86	6,48 $\pm$ 0,91	23,89 $\pm$ 3,95
12	27,17 $\pm$ 1,42	21,11 $\pm$ 1,62	64,06 $\pm$ 3,55	41,67 $\pm$ 2,34	46,67 $\pm$ 9,67	72 $\pm$ 3,86	7,46 $\pm$ 0,91	20,89 $\pm$ 3,95
13	21,56 $\pm$ 1,42	19,61 $\pm$ 1,62	55,06 $\pm$ 3,55	24 $\pm$ 2,34	42,44 $\pm$ 9,67	55,56 $\pm$ 3,86	4,52 $\pm$ 0,91	15,22 $\pm$ 3,95
14	30,33 $\pm$ 1,42	23,22 $\pm$ 1,62	57,61 $\pm$ 3,55	39,11 $\pm$ 2,34	55,33 $\pm$ 9,67	75,44 $\pm$ 3,86	6,72 $\pm$ 0,91	23 $\pm$ 3,95
15	26,83 $\pm$ 1,42	22,44 $\pm$ 1,62	54,28 $\pm$ 3,55	36,56 $\pm$ 2,34	56,22 $\pm$ 9,67	62,89 $\pm$ 3,86	6,46 $\pm$ 0,91	17,78 $\pm$ 3,95
16	29,5 $\pm$ 1,42	22,06 $\pm$ 1,62	49,38 $\pm$ 3,55	36,22 $\pm$ 2,34	71,78 $\pm$ 9,67	69,44 $\pm$ 3,86	7,63 $\pm$ 0,91	23,11 $\pm$ 3,95
17	21,61 $\pm$ 1,42	16,28 $\pm$ 1,62	41,81 $\pm$ 3,75	34,63 $\pm$ 2,46	33,44 $\pm$ 9,67	59,75 $\pm$ 4,04	4,49 $\pm$ 0,91	17,63 $\pm$ 4,15
18	27,17 $\pm$ 1,42	20,89 $\pm$ 1,62	63,22 $\pm$ 3,55	41,75 $\pm$ 2,46	34,89 $\pm$ 9,67	77 $\pm$ 4,04	4,59 $\pm$ 0,91	23 $\pm$ 4,15
19	23,17 $\pm$ 1,42	17,06 $\pm$ 1,62	46,39 $\pm$ 3,55	35 $\pm$ 2,34	48,11 $\pm$ 9,67	57,78 $\pm$ 3,86	4,49 $\pm$ 0,91	16,67 $\pm$ 3,95
20	21,33 $\pm$ 1,42	17,78 $\pm$ 1,62	54,5 $\pm$ 3,75	33,38 $\pm$ 2,46	38,56 $\pm$ 9,67	66,38 $\pm$ 4,04	5,51 $\pm$ 0,91	16,38 $\pm$ 4,15
21	28,17 $\pm$ 1,42	19,78 $\pm$ 1,62	63,67 $\pm$ 3,55	51,56 $\pm$ 2,34	48,89 $\pm$ 9,67	85,22 $\pm$ 3,86	5,68 $\pm$ 0,91	26,89 $\pm$ 3,95
22	33,17 $\pm$ 1,42	25,44 $\pm$ 1,62	64,5 $\pm$ 3,55	47,22 $\pm$ 2,34	61,44 $\pm$ 9,67	80,56 $\pm$ 3,86	7,33 $\pm$ 0,91	37 $\pm$ 3,95
23	24,44 $\pm$ 1,42	18 $\pm$ 1,62	50,72 $\pm$ 3,55	35 $\pm$ 2,34	49,56 $\pm$ 9,67	65,33 $\pm$ 3,86	4,9 $\pm$ 0,91	20,33 $\pm$ 3,95
24	25,11 $\pm$ 1,42	21,78 $\pm$ 1,62	64,28 $\pm$ 3,55	39 $\pm$ 2,34	41,56 $\pm$ 9,67	64,33 $\pm$ 3,86	4,78 $\pm$ 0,91	26,67 $\pm$ 3,95
25	27,83 $\pm$ 1,42	21,67 $\pm$ 1,62	55,67 $\pm$ 3,55	37,67 $\pm$ 2,34	59,11 $\pm$ 9,67	64,22 $\pm$ 3,86	6,74 $\pm$ 0,91	20,44 $\pm$ 3,95
26	23,36 $\pm$ 1,42	19,14 $\pm$ 1,62	56,08 $\pm$ 4,30	42,6 $\pm$ 3,02	51,14 $\pm$ 10,63	66,4 $\pm$ 4,92	3,19 $\pm$ 0,91	18,4 $\pm$ 5,11
27	20,5 $\pm$ 1,42	15,67 $\pm$ 1,62	44,28 $\pm$ 3,55	41 $\pm$ 2,34	55,33 $\pm$ 9,67	66 $\pm$ 3,86	4,28 $\pm$ 0,91	20 $\pm$ 3,95
28	17,94 $\pm$ 1,42	13,56 $\pm$ 1,62	21,56 $\pm$ 3,75	27,6 $\pm$ 3,01	26,89 $\pm$ 9,67	48,8 $\pm$ 4,90	3,18 $\pm$ 0,91	14,6 $\pm$ 5,10
29	23,78 $\pm$ 1,42	20,13 $\pm$ 1,62	55,5 $\pm$ 3,75	38 $\pm$ 2,79	57,89 $\pm$ 9,67	72,67 $\pm$ 4,55	5,24 $\pm$ 0,91	22,17 $\pm$ 4,72
30	26,56 $\pm$ 1,42	21,11 $\pm$ 1,62	46,33 $\pm$ 3,55	40,56 $\pm$ 2,34	48,89 $\pm$ 9,67	54,44 $\pm$ 3,86	7,2 $\pm$ 0,91	18,44 $\pm$ 3,95
31	22,17 $\pm$ 1,42	20,33 $\pm$ 1,62	47,33 $\pm$ 3,55	35,5 $\pm$ 2,78	50,22 $\pm$ 9,67	60,17 $\pm$ 4,54	3,68 $\pm$ 0,91	16,17 $\pm$ 4,70
32	26,89 $\pm$ 1,42	23,06 $\pm$ 1,62	65,39 $\pm$ 3,55	38,89 $\pm$ 2,34	74,67 $\pm$ 9,67	68,89 $\pm$ 3,86	7,43 $\pm$ 0,91	22,56 $\pm$ 3,95
33	26,61 $\pm$ 1,42	18,83 $\pm$ 1,62	69,86 $\pm$ 3,99	29,5 $\pm$ 2,79	38,11 $\pm$ 9,67	58 $\pm$ 4,55	4,36 $\pm$ 0,91	5,5 $\pm$ 4,72
34	27,17 $\pm$ 1,42	21,22 $\pm$ 1,62	65 $\pm$ 3,55	39,89 $\pm$ 2,34	51,78 $\pm$ 9,67	62,78 $\pm$ 3,86	4,72 $\pm$ 0,91	23,22 $\pm$ 3,95
35	30,72 $\pm$ 1,42	24,17 $\pm$ 1,62	59,17 $\pm$ 3,55	33 $\pm$ 2,34	44 $\pm$ 9,67	64,44 $\pm$ 3,86	6,49 $\pm$ 0,91	13,78 $\pm$ 3,95
Media	25,45 $\pm$ 1,42	20,31 $\pm$ 1,62	54,45 $\pm$ 3,64	37,87 $\pm$ 2,48	53,22 $\pm$ 9,70	66,58 $\pm$ 4,08	5,49 $\pm$ 0,91	20,97 $\pm$ 4,19
LSD	3,97	3,99	9,73	6,39	22,99	10,17	2,55	10,85

- **Altura de planta**

Cabe destacar que en primera instancia la altura de planta se analizó como medidas longitudinales, sin embargo, existió interacción del genotipo por la fecha de corte ( $p < 0,05$ ) lo que motivo a analizar cada fecha como variable independiente. De este modo para cada fecha se destacó un genotipo diferente. En la Tabla 2.3 se observa que existieron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre todos los genotipos para cada fecha. Los genotipos que presentaron alturas superiores a la media, para todas las fechas de medición fueron: 1, 5, 11, 12, 14, 18, 22, 32 y 34. Mientras, que los genotipos que presentaron los menores valores para todas las fechas de medición fueron: 9, 10, 17, 19, 23, 28 y 31.

- **Número de macollos vegetativos por planta**

El valor promedio fue de 53,2 macollos por planta, con un mínimo de 6, un máximo de 136 macollos y un coeficiente de variación del 53,2% (Tabla 2.3). Existieron diferencias significativas entre genotipos ( $p < 0,001$ ), el genotipo 5 produjo el mayor número de macollos y el genotipo 28 el menor (Tabla 2.4).

- **Diámetro de planta**

El valor promedio fue 67 cm de diámetro, con un rango amplio de 24 a 105 cm y un coeficiente de variación del 19,3% (Tabla 2.3). Existieron diferencias significativas entre genotipos ( $p < 0,001$ ), el genotipo 11 es el que mayor valor presentó 86,2cm y el genotipo 28 fue el que menor valor registró con 48,80 cm (Tabla 2.4).

- **Peso de materia seca por planta**

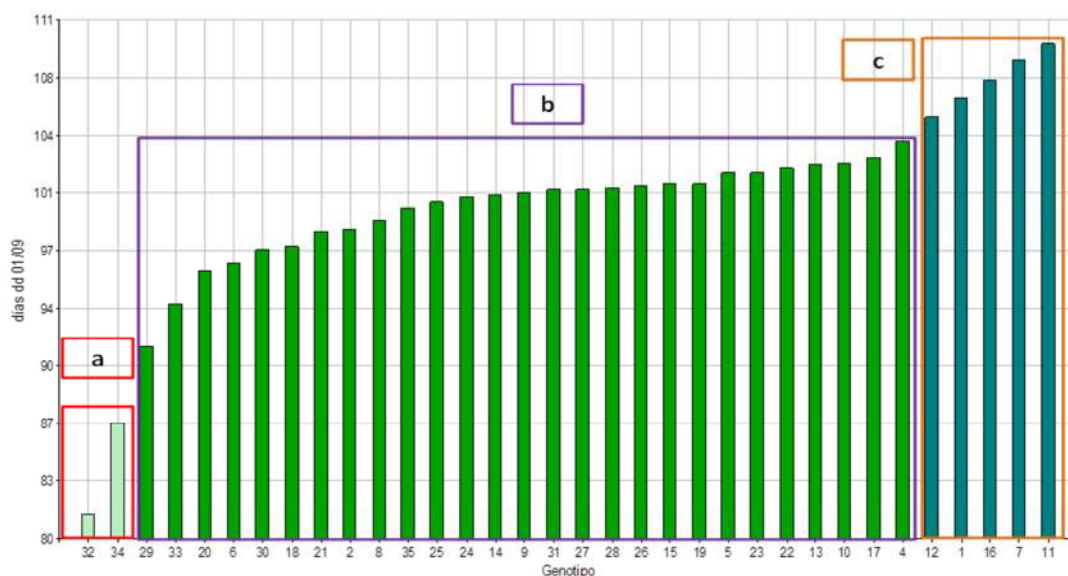
El valor medio del **peso de materia seca al primer corte (PS1)** (12/09/14) correspondiente al año de implantación fue 5,5 g (rango de variación: 0,2-1,2 g; Tabla 2.3) y con diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) entre los genotipos (Tabla 2.4), siendo el genotipo 1 con mayor producción 7,7 g y el genotipo 28 con la menor producción 3,8 g. El valor medio del **peso de materia seca al segundo corte (PS2)** (15/07/15) correspondiente al segundo año de implantación fue de 21,4 g (rango de variación: 2 - 61g; Tabla 2.3), y con diferencias significativas ( $P \leq 0,001$ ) entre los genotipos (Tabla 2.4), siendo los genotipos 22 y 33 quienes presentaron la mayor y menor producción, respectivamente. La media del **peso de materia seca acumulada (PMSA)** de ambos cortes fue de 25,8 g (rango: 0,2- 70,4 g; Tabla 2.3) y con diferencias significativas ( $P \leq 0,001$ ) entre los genotipos (Tabla 2.4), siendo los genotipos 22 y 33 los de mayor y menor producción, respectivamente.

En la Tabla 2.5, se observa el comportamiento promedio de los 35 genotipos de agropiro alargado para los caracteres reproductivos. En términos generales existieron diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) para todas las variables analizadas.

- **Emergencia de espigas**

La emergencia de espigas (desde 01/09) fue de 100 días (rango: 76- 111 días; Tabla 2.5). Se realizaron 12 mediciones cada 4 o 5 días desde el inicio hasta el final de la floración (21/12). De estas mediciones se desprendieron tres grupos a destacar (Figura 2.4):

- **Precoces:** aquellos genotipos que presentaron alrededor del 50% de los macollos potenciales con espiga emergiendo entre 76 y 86 días desde 01/09, representando el 5,8% de los genotipos de la población.
- **Intermedios:** aquellos genotipos que presentaron alrededor del 50% de los macollos potenciales con espiga emergiendo entre 91 y 100 días desde 01/09, representando el 80% de los genotipos de la población.
- **Tardíos:** aquellos genotipos que presentaron alrededor del 50% de los macollos potenciales con espiga emergiendo entre 104 y 111 días desde 01/09, representando el 14,2% de los genotipos de la población.



**Figura 2.4:** Cantidad de días desde el 01/09 hasta la emergencia de espigas. a) Precoces; b) Intermedios; c) Tardío



**Tabla 2.5:** Medias aritméticas de los caracteres vegetativos para cada genotipo  $\pm$  error estándar ( $\pm$  E.E). Emergencia de espiga (IE), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM). Comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ). *sd: sin dato.*

Genotipo	IE	AltF	Nesp	Lesp (cm)	P1000 (g)	PSEM (g)
1	107 $\pm$ 0,97	1,45 $\pm$ 0,45	80,22 $\pm$ 7,49	35,84 $\pm$ 1,33	6,4 $\pm$ 0,22	13,93 $\pm$ 2,10
2	99 $\pm$ 0,92	1,29 $\pm$ 0,45	62,11 $\pm$ 7,49	30,29 $\pm$ 1,33	6,9 $\pm$ 0,22	15,37 $\pm$ 2,10
3	sd	sd	sd	sd	sd	sd
4	104 $\pm$ 1,12	1,3 $\pm$ 0,45	37,11 $\pm$ 7,49	29,54 $\pm$ 1,33	5,5 $\pm$ 0,22	5,24 $\pm$ 2,10
5	102 $\pm$ 0,92	1,52 $\pm$ 0,45	103,8 $\pm$ 7,49	31,99 $\pm$ 1,33	5 $\pm$ 0,22	17,1 $\pm$ 2,10
6	96 $\pm$ 0,92	1,4 $\pm$ 0,45	76,56 $\pm$ 7,49	25 $\pm$ 1,33	6,1 $\pm$ 0,22	23,06 $\pm$ 2,10
7	109 $\pm$ 0,97	1,31 $\pm$ 0,45	62,75 $\pm$ 7,86	31,31 $\pm$ 1,40	7,5 $\pm$ 0,24	12,65 $\pm$ 2,22
8	99 $\pm$ 0,97	1,47 $\pm$ 0,45	55,89 $\pm$ 7,49	30,93 $\pm$ 1,33	6,8 $\pm$ 0,22	20,43 $\pm$ 2,10
9	101 $\pm$ 0,97	1,79 $\pm$ 0,45	36,29 $\pm$ 8,31	30,53 $\pm$ 1,48	6,5 $\pm$ 0,25	7,72 $\pm$ 2,37
10	103 $\pm$ 0,97	1,72 $\pm$ 0,45	59,63 $\pm$ 7,86	29,98 $\pm$ 1,40	7 $\pm$ 0,24	19,04 $\pm$ 2,22
11	110 $\pm$ 0,92	1,62 $\pm$ 0,45	67,56 $\pm$ 7,49	30,8 $\pm$ 1,33	5,3 $\pm$ 0,22	8,92 $\pm$ 2,10
12	105 $\pm$ 0,92	1,50 $\pm$ 0,45	50,25 $\pm$ 7,86	28,08 $\pm$ 1,40	5,76 $\pm$ 0,24	10,99 $\pm$ 2,22
13	103 $\pm$ 0,92	1,12 $\pm$ 0,45	32 $\pm$ 7,86	22,2 $\pm$ 1,40	6,1 $\pm$ 0,24	6,29 $\pm$ 2,22
14	101 $\pm$ 0,92	1,3 $\pm$ 0,45	52,67 $\pm$ 7,49	31,19 $\pm$ 1,33	5,4 $\pm$ 0,22	11,43 $\pm$ 2,10
15	101 $\pm$ 0,92	1,26 $\pm$ 0,45	52,5 $\pm$ 7,86	31,29 $\pm$ 1,40	6,9 $\pm$ 0,24	15,13 $\pm$ 2,22
16	108 $\pm$ 0,92	1,40 $\pm$ 0,45	60,44 $\pm$ 7,49	30,31 $\pm$ 1,33	6,24 $\pm$ 0,24	14,49 $\pm$ 2,10
17	103 $\pm$ 0,97	1,33 $\pm$ 0,45	30,67 $\pm$ 8,88	26,11 $\pm$ 1,59	6,8 $\pm$ 0,27	7,71 $\pm$ 2,55
18	98 $\pm$ 0,97	1,36 $\pm$ 0,45	58,38 $\pm$ 7,86	20,33 $\pm$ 1,40	6,3 $\pm$ 0,24	10,74 $\pm$ 2,22
19	101 $\pm$ 0,97	1,4 $\pm$ 0,45	38,33 $\pm$ 7,49	26,64 $\pm$ 1,33	7 $\pm$ 0,22	9,95 $\pm$ 2,10
20	96 $\pm$ 1,04	1,23 $\pm$ 0,45	36,25 $\pm$ 7,86	22,97 $\pm$ 1,40	5,7 $\pm$ 0,24	9,32 $\pm$ 2,22
21	98 $\pm$ 0,92	1,41 $\pm$ 0,45	58,22 $\pm$ 7,49	24,2 $\pm$ 1,33	5,1 $\pm$ 0,22	12,05 $\pm$ 2,10
22	102 $\pm$ 0,92	1,46 $\pm$ 0,45	66,11 $\pm$ 7,49	30,15 $\pm$ 1,33	6,6 $\pm$ 0,22	23,82 $\pm$ 2,10
23	102 $\pm$ 0,92	1,34 $\pm$ 0,45	44,56 $\pm$ 7,49	25,81 $\pm$ 1,33	7,2 $\pm$ 0,24	12,86 $\pm$ 2,10
24	101 $\pm$ 0,92	1,46 $\pm$ 0,45	55,22 $\pm$ 7,49	26,45 $\pm$ 1,33	8,1 $\pm$ 0,22	18,82 $\pm$ 2,10
25	100 $\pm$ 1,04	1,23 $\pm$ 0,45	74,33 $\pm$ 7,49	30,4 $\pm$ 1,33	4,7 $\pm$ 0,22	17,35 $\pm$ 2,10
26	104 $\pm$ 1,12	1,46 $\pm$ 0,45	53 $\pm$ 9,64	35,7 $\pm$ 1,73	6,6 $\pm$ 0,30	14,62 $\pm$ 2,79
27	101 $\pm$ 0,92	1,3 $\pm$ 0,45	37,11 $\pm$ 7,49	26,5 $\pm$ 1,33	7 $\pm$ 0,22	10,89 $\pm$ 2,10
28	101 $\pm$ 1,12	1,24 $\pm$ 0,45	1,5 $\pm$ 14,71	29,15 $\pm$ 2,68	5,1 $\pm$ 0,47	0,09 $\pm$ 4,39
29	91 $\pm$ 1,04	1,34 $\pm$ 0,45	63,57 $\pm$ 8,32	25,52 $\pm$ 1,49	4,8 $\pm$ 0,25	11,86 $\pm$ 2,37
30	97 $\pm$ 0,92	1,41 $\pm$ 0,45	16,33 $\pm$ 7,49	28,97 $\pm$ 1,33	5,8 $\pm$ 0,22	2,37 $\pm$ 2,10
31	101 $\pm$ 1,12	1,34 $\pm$ 0,45	28,13 $\pm$ 7,86	24,78 $\pm$ 1,40	6,1 $\pm$ 0,24	4,04 $\pm$ 2,22
32	76 $\pm$ 0,97	1,59 $\pm$ 0,45	66,89 $\pm$ 7,49	31,17 $\pm$ 1,33	5,1 $\pm$ 0,22	13,97 $\pm$ 2,10
33	94 $\pm$ 1,59	1,42 $\pm$ 0,45	19 $\pm$ 9,62	28,17 $\pm$ 1,73	6,7 $\pm$ 0,30	3,94 $\pm$ 2,79
34	86 $\pm$ 0,92	1,56 $\pm$ 0,45	50 $\pm$ 7,49	25,01 $\pm$ 1,33	6,8 $\pm$ 0,22	14,16 $\pm$ 2,10
35	100 $\pm$ 0,99	1,46 $\pm$ 0,45	66 $\pm$ 7,49	35,6 $\pm$ 1,33	5,6 $\pm$ 0,24	13,56 $\pm$ 2,10
<b>Media</b>	100 $\pm$ 0,99	1,39 $\pm$ 0,45	53,66 $\pm$ 8,00	28,61 $\pm$ 1,43	6,2 $\pm$ 0,24	12,68 $\pm$ 2,27
<b>LSD</b>	sd	0,13	20,61	3,79	0,67	5,76

- **Altura al 100% de floración:**

La altura promedio al momento del 100% de floración de todas las plantas, fue de 1,41 m con un rango desde 0,89 a 1,89m (Tabla 2.3). Se observó diferencias significativas entre los genotipos (Tabla 2.5), la mayor altura fue para el genotipo 9 con 1,79m y el más bajo fue el genotipo 3 con 1,06m.

- **Número de espigas**

El número de macollos reproductivos promedio producido por planta fue de 53,66 (Tabla 2.5) aunque algunos genotipos produjeron en promedio valores muy bajos como lo fue el genotipo 28 con 1,5 espigas seguido por el genotipo 30 que produjo 16 espigas por planta; mientras que otros genotipos presentaron valores elevados como el genotipo 5 con 103,78 espigas por planta en promedio. Este carácter presentó diferencias significativas ( $P \leq 0,001$ ) entre los genotipos.

- **Largo de espigas**

La media para el largo de espiga por planta fue de 28,61cm, con un rango de 15,90 cm a 43,27cm (Tabla 2.3). Este carácter presentó diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) entre los genotipos (Tabla 2.5), las espigas del genotipo 26 fueron en promedio las más largas (30,87 cm) mientras que las del genotipo 21 fueron las más cortas (20,33 cm).

- **Peso total de semillas**

La media del peso total de semillas por planta fue de 12,68 g, con un rango que osciló entre 0,06 a 39,22 g (Tabla 2.3). Este carácter presentó diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) entre los genotipos, el genotipo 22 fue la que evidenció el mayor peso (23,82 g) mientras que el genotipo 28 presentó el menor peso total de semillas por planta (0,09 g) seguido por el genotipo 30 (2,37g) (Tabla 2.5).

## **1.2. Estimación de los componentes de la variancia**

Las estimaciones del grado de determinación genética (GDG) para todos los caracteres oscilaron desde 0,29 hasta 0,67 (Tabla 2.6). Los mayores valores de GDG fueron para las variables altura ( $Alt-3=0,67$  y  $Alt-1=0,63$ ) y las reproductivas donde el PMIL alcanzó el mayor valor (0,59). Las variables de producción de biomasa fueron las de menor GDG ( $Nmac=0,29$  y  $PS=0,30-0,36$ ). En cuanto a los coeficientes de variación genética (CVg) y fenotípica (CVf), se observó los mayores valores para los caracteres peso total de semilla, número de espiga, seguidos de los correspondientes a peso de materia seca (Tabla 2.6).

**Tabla 2.6:** Variancia fenotípica ( $\sigma^2_f$ ), variancia genética ( $\sigma^2_g$ ), variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), grado de determinación genética (GDG), coeficiente de variación fenotípica ( $CV_f$ ), coeficiente de variación genética ( $CV_g$ ) para todos los caracteres evaluados en la población. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS), emergencia de espiga (IE), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

	Caracter	Varianza Fenotípica ( $\sigma^2_f$ )	Varianza Genética ( $\sigma^2_g$ )	Varianza Ambiental ( $\sigma^2_e$ )	GDG	$CV_f$	$CV_g$
<b>Caracteres Vegetativos</b>	Alt-1	30,65	19,36	11,29	0,63	13,20	17,28
	Alt-2	26,21	12,82	13,40	0,49	18,02	17,63
	Alt-3	218,15	146,41	71,74	0,67	15,56	22,22
	Alt-4	66,56	35,76	30,80	0,54	14,66	15,79
	Nmac	754,76	220,23	534,53	0,29	43,45	27,89
	DM	161,07	73,27	87,80	0,45	14,07	12,86
	PMS1	8,92	3,20	5,71	0,36	43,56	32,62
	PMS2	134,22	40,32	93,90	0,30	46,21	30,28
	PMSA	187,18	71,40	115,78	0,38	42,39	33,29
<b>Caracteres Reproductivos</b>	AltF	0,0337	0,0256	0,0081	0,75	6,48	11,51
	Nesp	724,74	406,83	317,91	0,56	34,57	39,11
	Lesp	26,15	13,62	12,53	0,52	12,37	12,90
	PMIL	1,06	0,62	0,44	0,59	10,67	12,77
	PSEM	61,96	33,87	28,09	0,55	43,54	47,81

### 1.3. Correlaciones fenotípicas

En el análisis general se observó correlaciones fenotípicas significativas entre todas las variables, a excepción del PMIL (Tabla 2.7).

**Tabla 2.7:** Coeficiente de correlación de Pearson,  $H_0: r=0$  (para el número de observaciones). Por encima de la diagonal se observa el nivel de significancia y por debajo de la diagonal el coeficiente de correlación. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS), emergencia de espiga (IE), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

	Alt1	Alt2	Alt3	Alt4	Nmac	Diam	PMS1	PMS2	AltF	Nesp	Lesp	P1000	PSEM
Alt1	1	***	***	***	***	***	***	***	NS	***	***	NS	***
Alt2	0,62	1	***	***	***	***	***	***	*	***	***	NS	***
Alt3	0,55	0,64	1	***	***	***	***	***	*	***	***	NS	***
Alt4	0,32	0,32	0,36	1	***	***	***	***	*	***	***	NS	***
Nmac	0,42	0,43	0,37	0,24	1	***	***	***	*	***	***	NS	***
Diam	0,4	0,38	0,5	0,74	0,24	1	***	***	*	***	***	NS	***
PMS1	0,56	0,37	0,33	0,2	0,44	0,24	1	***	*	***	***	NS	***
PMS2	0,25	0,27	0,31	0,66	0,21	0,62	0,22	1	*	***	***	NS	***
AltF	0,07	0,12	0,15	0,17	0,12	0,13	0,14	0,11	1	*	***	NS	NS
Nesp	0,46	0,52	0,61	0,39	0,49	0,52	0,43	0,46	0,14	1	***	NS	***
Lesp	0,32	0,38	0,22	0,15	0,23	0,17	0,24	0,24	0,2	0,34	1	NS	***
P1000	-0,09	-0,09	-0,03	-0,01	-0,08	-0,09	-0,09	0,04	0,03	-0,05	-0,02	1	***
PSEM	0,36	0,4	0,52	0,28	0,39	0,35	0,38	0,42	0,06	0,79	0,24	0,18	1

\*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; NS: no significativa

## 1.4. Análisis Multivariado

### 1.4.1. Componentes Principales

Al realizar el análisis de componentes principales, considerando todas las variables analizadas a excepción de las variables hábito y color (14 variables en total), se observó que solo dos o tres autovalores producen una buena síntesis de los datos, dado que las dos primeras variables explican el 84% de la variación morfo-fisiológica total de los 35 genotipos; mientras que si consideramos las tres primeras componentes explican el 90% de la variación (Tabla 2.8). Al construir la componente principal 1 (CP1), la variable número de espigas por planta fue la que explicó la mayor variabilidad (Tabla 2.9). Los genotipos 5 y 1 fueron los de mayor número de espigas y contrariamente los genotipos 28, 30 y 33 los de menor número de espigas. Al construir la segunda componente principal (CP2) (Figura 2.5) la variable número de macollos vegetativos es la que explica la mayor variabilidad. Los genotipos 10 y 11 son los que presentaron mayor número de macollos por planta y contrariamente los genotipos 18 y 21 los que menor cantidad de macollos vegetativos por planta presentaron, por ende menor valor en las ordenadas.

**Tabla 2.8:** Autovalores de la matriz de correlación, proporción que explica cada autovalor y proporción acumulada.

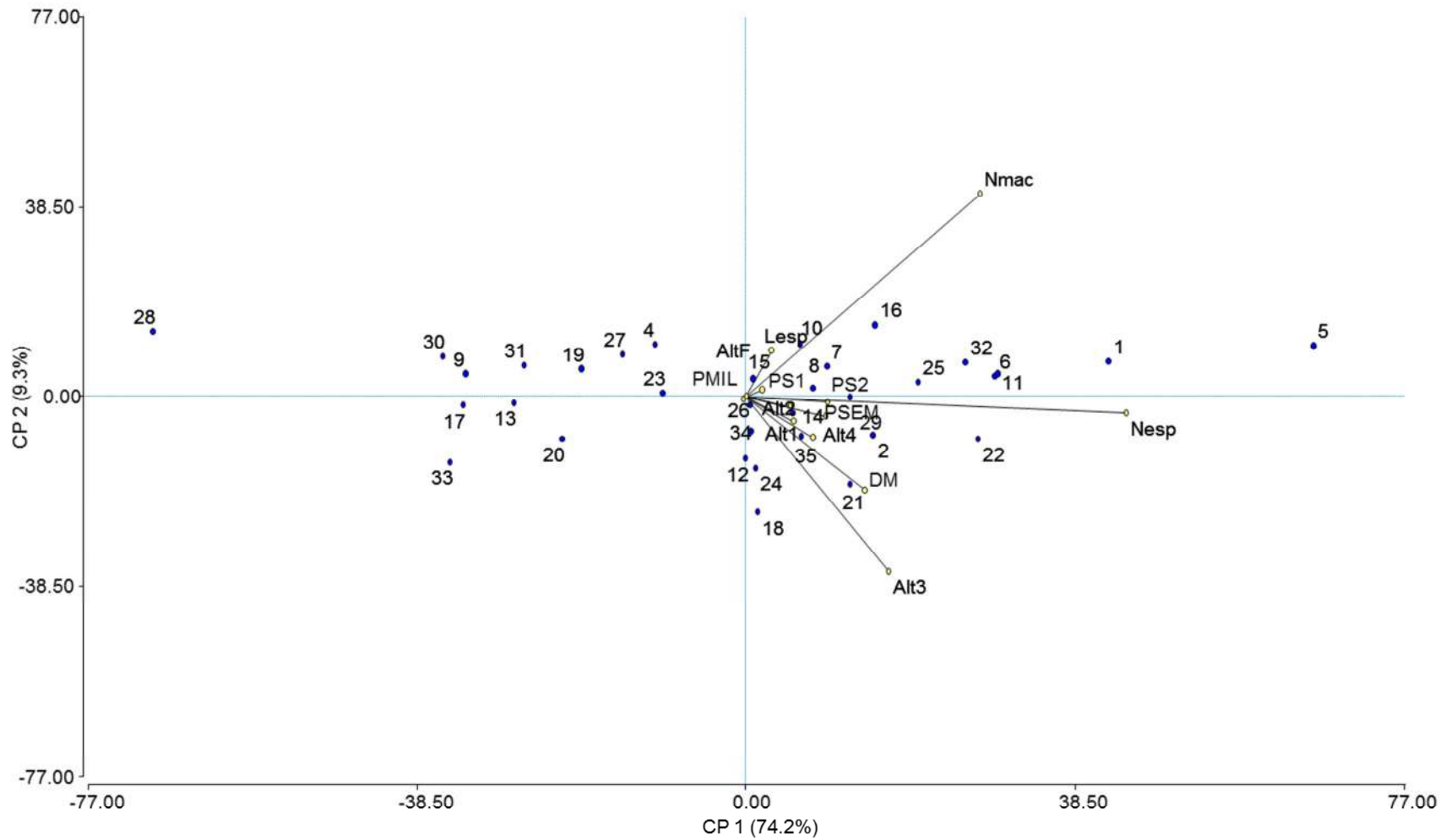
Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum
1	692,94	0,74	0,74
2	87,03	0,09	0,84
3	57,27	0,06	0,90
4	44,50	0,05	0,94
5	17,71	0,02	0,96
6	13,5	0,01	0,98
7	8,73	0,01	0,99
8	6,24	0,01	0,99
9	3,61	3,90E-03	1
10	1	1,10E-03	1
11	0,68	7,30E-04	1
12	0,26	2,80E-04	1
13	0,01	1,40E-05	1

**Tabla 2.9:** Autovectores (e) correspondientes a la CP1 (e1) y a la CP2 (e2) para las variables analizadas. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

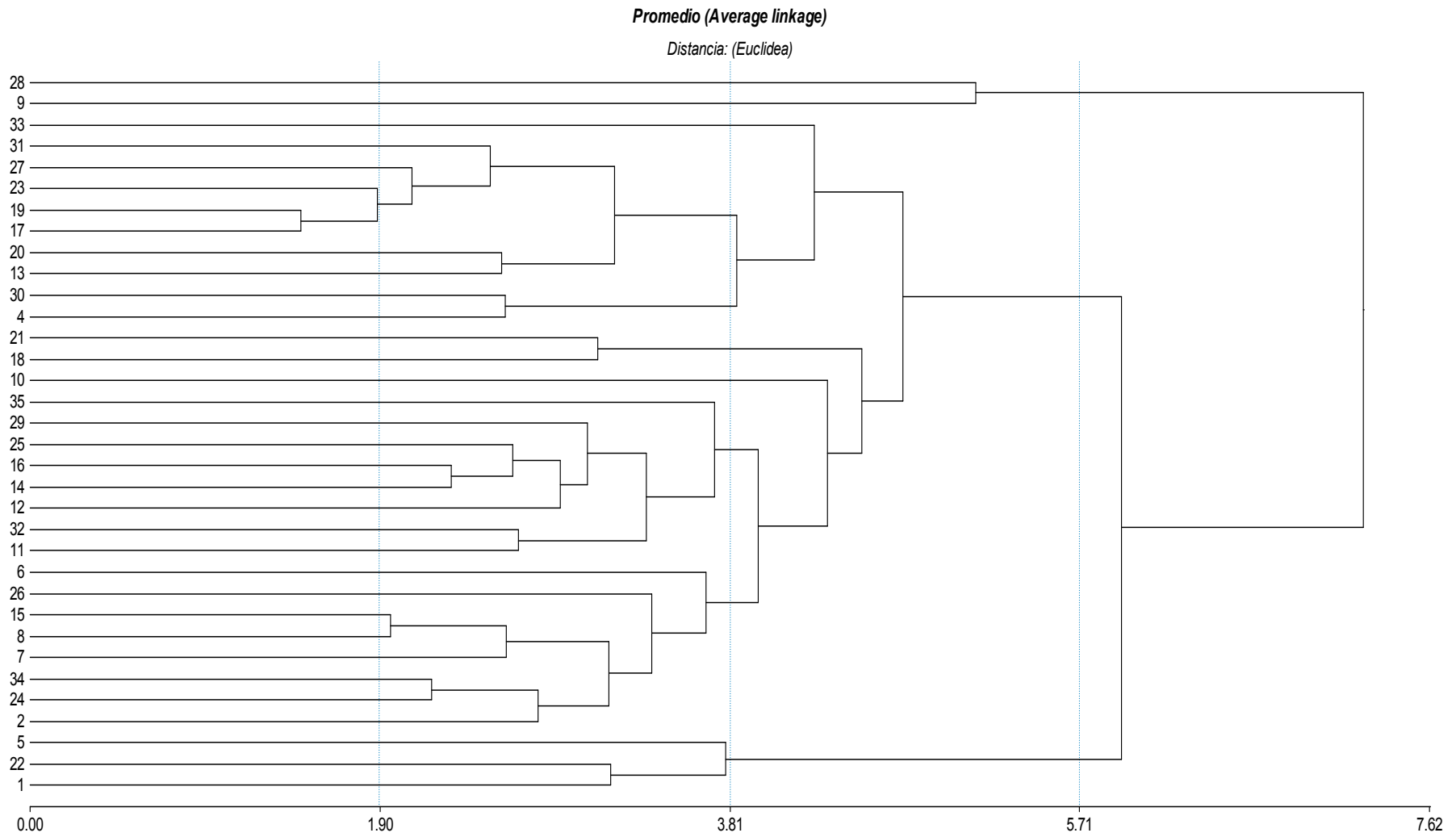
Variables	e1	e2
Alt1	0,09	-0,09
Alt2	0,09	-0,04
Alt3	0,28	-0,6
Alt4	0,13	-0,14
Nmac	0,46	0,69
DM	0,24	-0,32
PMS1	0,03	0,02
PMS2	0,16	-0,02
AltF	$1,50 \cdot 10^{-03}$	$9,00 \cdot 10^{-04}$
Nesp	0,75	-0,06
Lesp	0,05	0,15
PMIL	-0,01	-0,01
PSEM	0,16	-0,07

#### **1.4.2. Análisis de Conglomerados**

Por otro lado, se realizó el análisis de conglomerados jerarquizado mediante el método encadenamiento promedio (*average linkage*) y la distancia euclídea, para los 35 genotipos discriminados por las 14 variables mencionadas para el análisis de CP. Al 25% de la distancia planteada (1,90) prácticamente no se forman subgrupos o clusters dentro de los cuales los genotipos que los conforman cuentan con perfiles morfológicos con mayor grado de similitud para todas las variables incluidas (Figura 2.6), la correlación cofenética para este análisis fue de 0,86.



**Figura 2.5:** Análisis de componentes principales (CP1, CP2), para las 14 variables analizadas y los 35 genotipos en estudio. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), diámetro de mata (DM), peso de materia seca (PMS), altura a floración (AltF), número de espiga (Nesp), largo de espiga (Lesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).



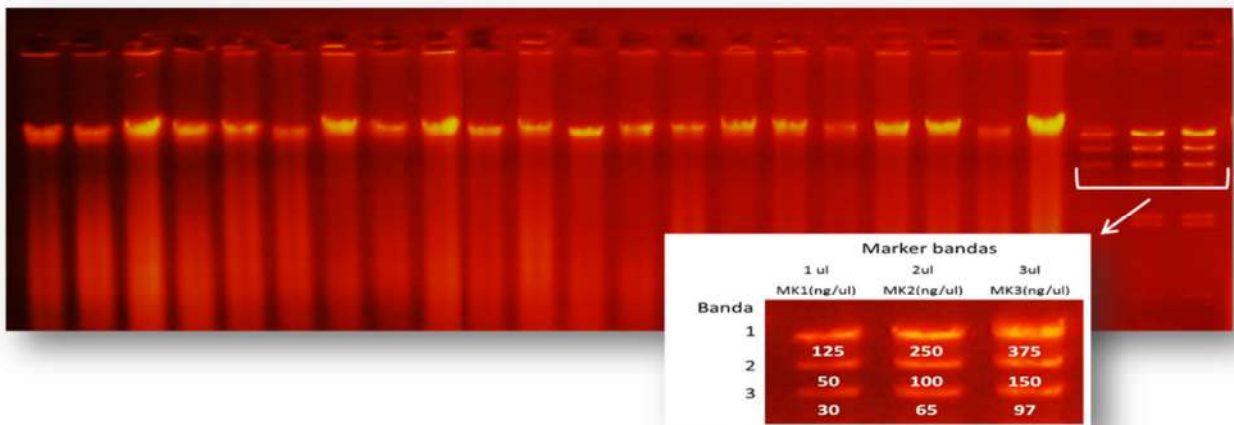
**Figura 2.6:** Análisis cluster mediante el método Average para las 14 variables analizadas y los 35 genotipos en estudio.



## 2. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular

### 2.1. Extracción y cuantificación de ADN

El protocolo empleado para la extracción de ADN, permitió lograr ADN en cantidad y calidad suficiente para generar los productos de amplificación definidos y reproducibles. En la Foto 2.6 a modo de ejemplo se aprecia la cuantificación de ADN obtenida mediante gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Los valores que se obtuvieron oscilaron entre 80-500 ng/ $\mu$ l.



**Foto 2.6:** Cuantificación de ADN en geles de agarosa 0,8% con bromuro de etidio (0,1 $\mu$ g/ $\mu$ l). Ampliación de las bandas marcadoras utilizadas.

### 2.2. Amplificación del ADN

La puesta a punto se logró utilizando cinco genotipos tomados al azar de la población, de las modificaciones que se iban realizando se observó que a medida que la temperatura de hibridación disminuyó los productos de amplificación o “bandas” fueron más inespecíficos formándose bandas espurias, y a medida que la temperatura de hibridación se incrementó los productos de amplificación fueron más específicos, pero menos nítidos. De igual manera cuando se decrementó la concentración de  $Cl_2Mg$  los productos de amplificación fueron menos nítidos y cuando la concentración se incrementó fueron más inespecíficos formándose bandas espurias. El mismo efecto se observó cuando se incrementó la cantidad de primer o Taq polimerasa, observándose menor nitidez en los productos de amplificación y la formación de bandas espurias, como así también cuando se disminuyó la cantidad de primer o Taq polimerasa se observó una menor nitidez en las

bandas obtenidas. De esta manera las reacciones de amplificación más nítidas se obtuvieron con una temperatura de hibridación de 53°C y 65°C de acuerdo el SSR, 1,5mM de Cl<sub>2</sub>Mg, 10 μM de primer y 0,75 U/μl de Taq polimerasa.

### 2.3. Productos Amplificados

Se lograron amplificar 15 de los 33 SSR públicos que se probaron, todos los SSR amplificados fueron polimórficos. La cantidad de alelos observados en total fueron 144 en los 35 genotipos con los 15 SSR utilizados con un rango de 3 a 21 alelos por SSR (Tabla 2.10), el tamaño en pares de bases (pb) osciló desde los 125 a los 450 pb, la temperatura de hibridación de acuerdo a cada SSR oscilo entre los 49°C, para el LPSSRH01H06 y 65°C para el Nffa024. En la Foto 2.7 se muestra como ejemplo de amplificación dos SSR: wmc43 y Nffa066

**Tabla 2.10:** Microsatélite (SSR), número (Nº) de alelos, tamaño en pares de bases (pb), Temperatura de hibridación (Tm), ciclo utilizado (Ciclo).

SSR	Nº Alelos	Tamaño (pb)	Tm °C	Ciclo
LPH01A07	10	200-325	53	Tach Down
LPK01A03	6	200-275	53	Tach Down
LPSSRH01H06	10	150-200	49	Tach Down
LPSSRK03B03	21	150-350	55	Tach Down
LPSSRK10H05	7	375-450	60	Tach Down
Nffa002	3	275-325	65	Festuca
Nffa015	6	175-225	54	Festuca
Nffa019	15	125-200	54	Festuca
Nffa023	6	175-225	58	Festuca
Nffa024	3	175-225	65	Festuca
Nffa031	11	220-380	60	Festuca
Nffa034	10	225-350	55	Festuca
Nffa066	15	225-375	55	Festuca
WMC43	7	300-425	61	Trigo
WMS135	14	150-225	60	Trigo

Las medidas de diversidad genética para la población se observan en la Tabla 2.11, indicando que el total de los *loci* fueron polimórficos al 95%, con una heterocigosis promedio de 0,92, un promedio de número efectivo de alelos de 1,70 y un total promedio de 30 alelos por individuos.

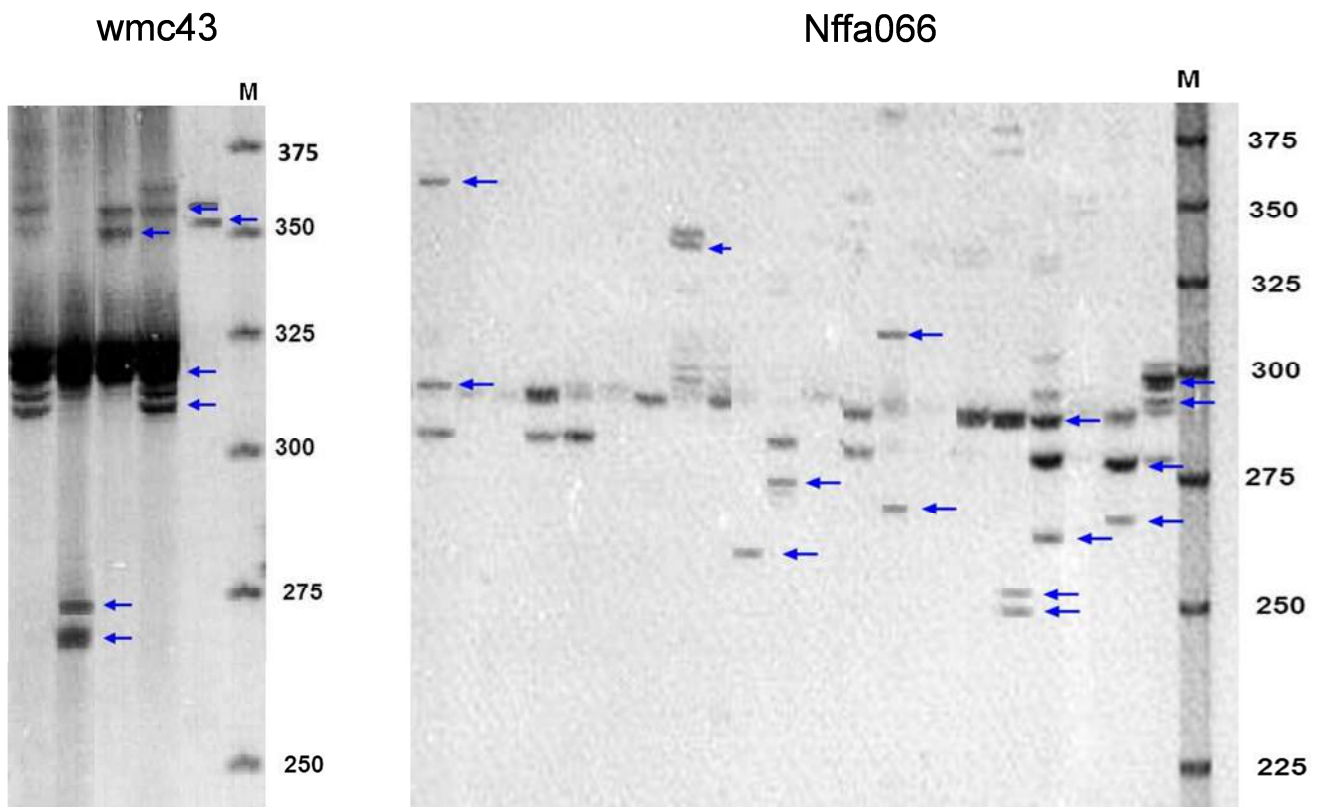
**Tabla 2.11:** Medidas de diversidad genética

Estadístico	Total
Loci polimorficos(95)	1,00
Heterocigosis promedio	0,92
# efectivo de alelos	1,70
Número de alelos	30

En la Tabla 2.12 se observa la estadística descriptiva de los SSR amplificados. El SSR LPSSRK03B03 fue el que presentó una mayor cantidad de bandas polimórficas (BP) con un total de 21 (bandas=alelos) sin presencia de bandas monomórficas (BM), por ende, mayor cantidad de bandas totales (BT). Por otro lado, los SSR Nffa024 y Nffa002 fueron los que presentaron menor número BT con solo 3 bandas de las cuales, 2 fueron BP y 1 BM. En cuanto a la cantidad de alelos efectivos, los que menor valores presentaron fueron LPSSRH01H06 y LPSSRK03B03, mientras que el mayor valor fue para LPSSRK10H05. En cuanto al índice polimórfico (PMF) al 95% (PMF (95)), los SSR LPK01A03, LPSSRK10H05, Nffa015, Nffa031 y Nffa034 fueron los que mayor PMF (95) presentaron (1,00), con 10, 6, 6, 11 y 10 alelos respectivamente. Los mayores valores de contenido de información polimórfica (PIC), fueron para los SSR Nffa034 y LPSSRK10H05 con PIC=0,38, LPK01A03 Nffa002 con un PIC=0,37. Para el porcentaje de amplificación (AMP), los mayores resultados se obtuvieron para los SSR Nffa024, Nffa023 y Nffa015 con valores superiores al 60%; mientras que la probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo (PDICMA) fue mayor para el SSR Nffa002 ( $2,00 \text{ E}^{-03}$ ) y la menor fue para el SSR Nffa031 ( $3,90 \text{ E}^{-12}$ ). En la foto 2.7 se observan ejemplos de amplificación.

**Tabla 2.12:** Descriptiva de los SSR utilizados para la caracterización molecular de los 35 genotipos con los 15 SSR seleccionados.

SSR	BP	BM	BT	Alelos efectivos	PMF(95)	PIC	AMP	PDICMA
LPH01A07	10	0	10	1,30	0,60	0,21	13,43	4,40E <sup>-06</sup>
LPK01A03	6	0	6	1,99	1,00	0,37	46,67	1,60E <sup>-09</sup>
LPSSRH01H06	10	0	10	1,40	0,90	0,25	17,43	9,60E <sup>-11</sup>
LPSSRK03B03	21	0	21	1,42	0,57	0,25	18,1	3,50E <sup>-09</sup>
LPSSRK10H05	7	0	7	1,99	1,00	0,38	51,84	7,90E <sup>-10</sup>
Nffa002	2	1	3	1,94	0,33	0,37	41,9	2,00E <sup>-03</sup>
Nffa015	6	0	6	1,88	1,00	0,36	62,38	2,90E <sup>-10</sup>
Nffa019	14	1	15	1,75	0,67	0,34	31,05	1,20E <sup>-04</sup>
Nffa023	4	2	6	1,85	0,67	0,35	64,29	9,80E <sup>-04</sup>
Nffa024	2	1	3	1,19	0,67	0,14	91,43	6,40E <sup>-05</sup>
Nffa031	11	0	11	1,77	1,00	0,34	31,95	3,90E <sup>-12</sup>
Nffa034	10	0	10	1,99	1,00	0,38	50,86	4,90E <sup>-08</sup>
Nffa066	15	0	15	1,36	0,47	0,23	15,62	3,20E <sup>-08</sup>
wmc43	6	1	7	1,79	0,86	0,35	33,06	4,40E <sup>-08</sup>
wms1351	14	0	14	1,78	0,86	0,34	32,45	2,80E <sup>-10</sup>
<b>Total</b>	$\Sigma 138$	$\Sigma 6$	$\Sigma 144$	$\mu 1,69$	$\mu 0,77$	$\mu 0,310$	$\mu 32,9$	$\mu 5,80E^{-109}$

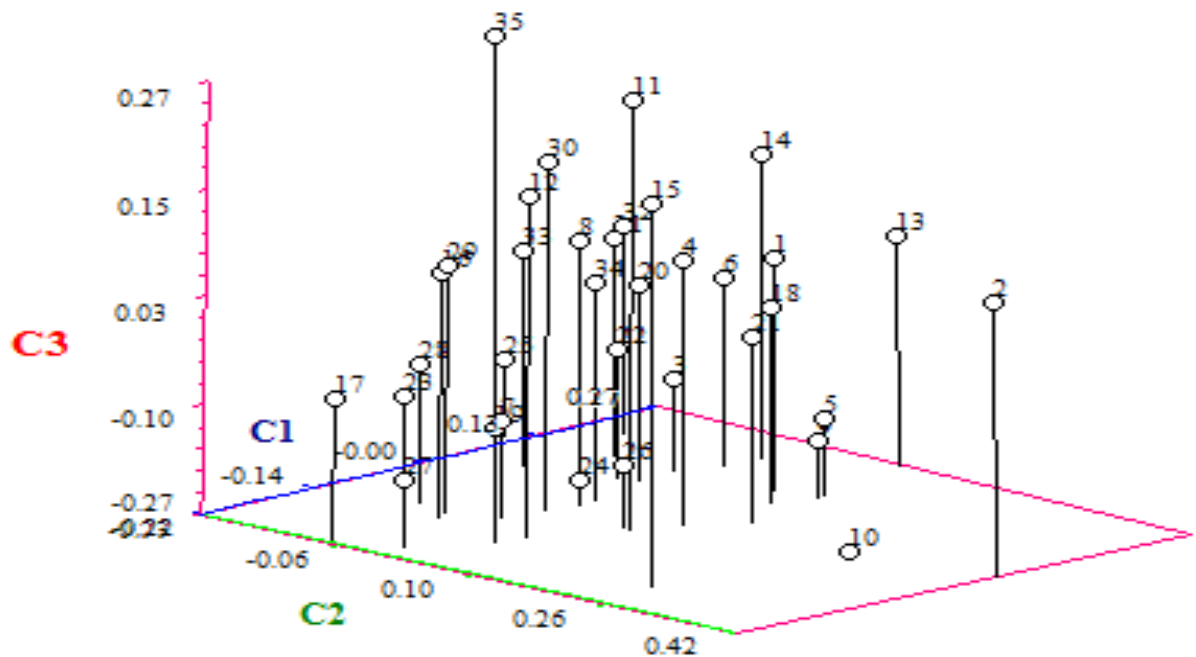


**Foto 2.7:** Productos amplificados por SSR wmc43 y Nffa066, M: Marcador

## 2.4. Análisis Multivariado

### 2.4.1. Análisis de Ordenamientos. Análisis de Coordenadas Principales.

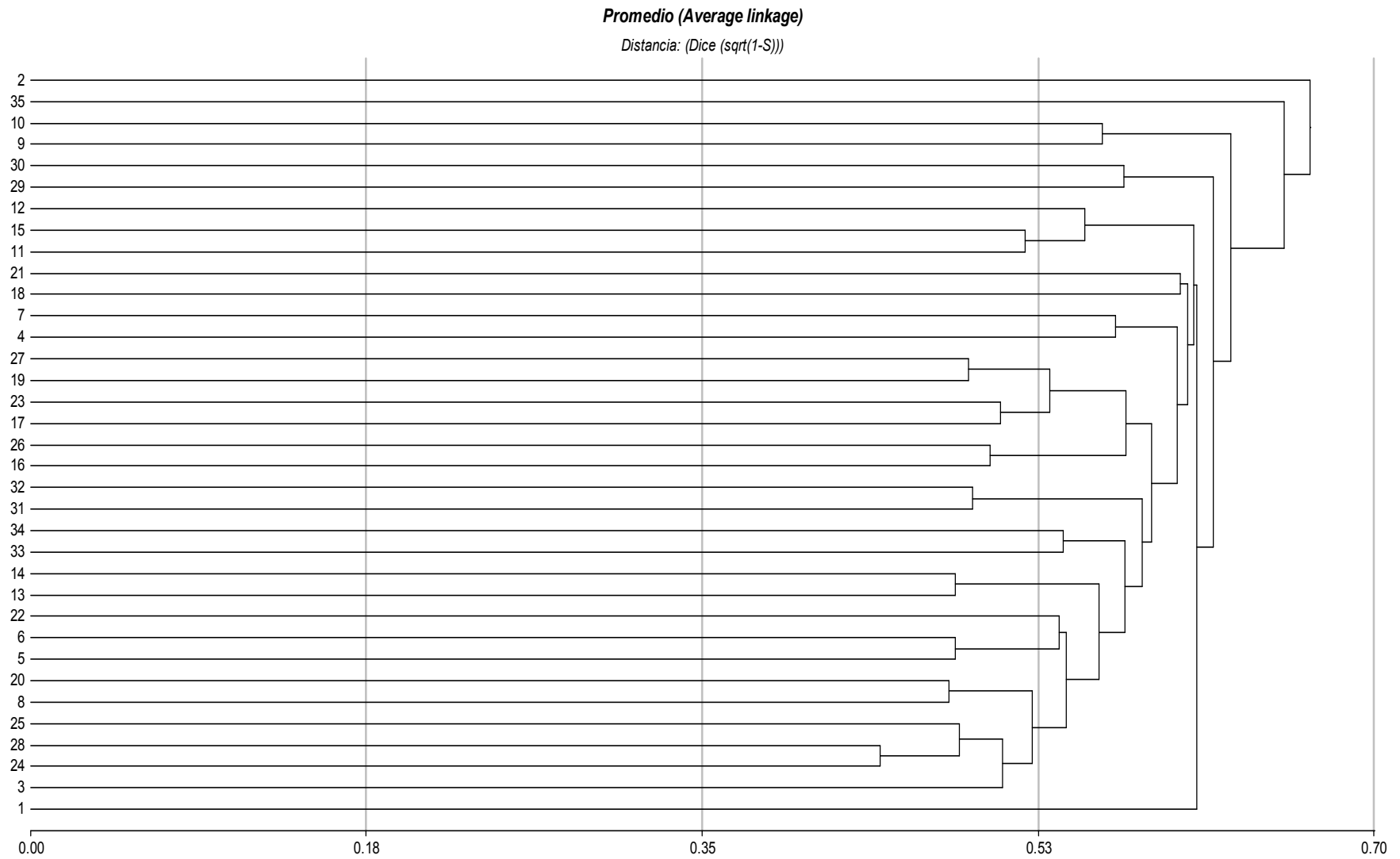
Al realizar el análisis de coordenadas principales, vemos que la primera y la segunda variable explican el 7,63 y 6,94% de la variación molecular total de los 35 genotipos, es decir ambas variables explican un 14,58% de la variación (Figura 2.7). Mientras que la tercera variable explica el 6,40% de la variación explicando las tres variables el 20,98% de la variación.



**Figura 2.6:** Gráfico tridimensional de coordenadas principales que muestra la disposición de las siete poblaciones, basado en la distancia de Prevosti (C1: componente principal 1=7,63%; C2: componente principal 2=6,94; C3: componente principal 3=6,40%)

#### 2.4.2. Análisis de Agrupamiento. Análisis de Cluster

Este análisis se definió mediante el método UPGMA con distancia de similitud de Dice para los 35 genotipos analizados. Como se puede observar en el dendrograma (Figura 2.8), los perfiles moleculares de todos los genotipos son distintos a una distancia del 50% de la distancia establecida (0,35), formándose 21 subgrupos a una distancia del 75% (0,53) de la establecida. El genotipo 2 es el que presenta mayor distancia genética y se agrupa en forma separada de los demás genotipos, seguido por el genotipo 35. La distorsión ocasionada con el manejo de los datos durante la construcción del dendrograma, se logró a través de la obtención del coeficiente de correlación cofenética, cuyo valor fue de  $r = 0,70$



**Figura 2.8:** Análisis de conglomerados de los 35 genotipos para los 15 SSR, método UPGMA y distancia de similitud Dice.

### 3. Análisis conjunto de la caracterización morfológica y molecular

El objetivo de realizar el análisis conjunto de los caracteres morfológicos y moleculares fue determinar las posibles relaciones existentes entre ambas caracterizaciones. Para ello se realizó el análisis de procrustes generalizado.

#### 3.1. Análisis de Procrustes generalizados

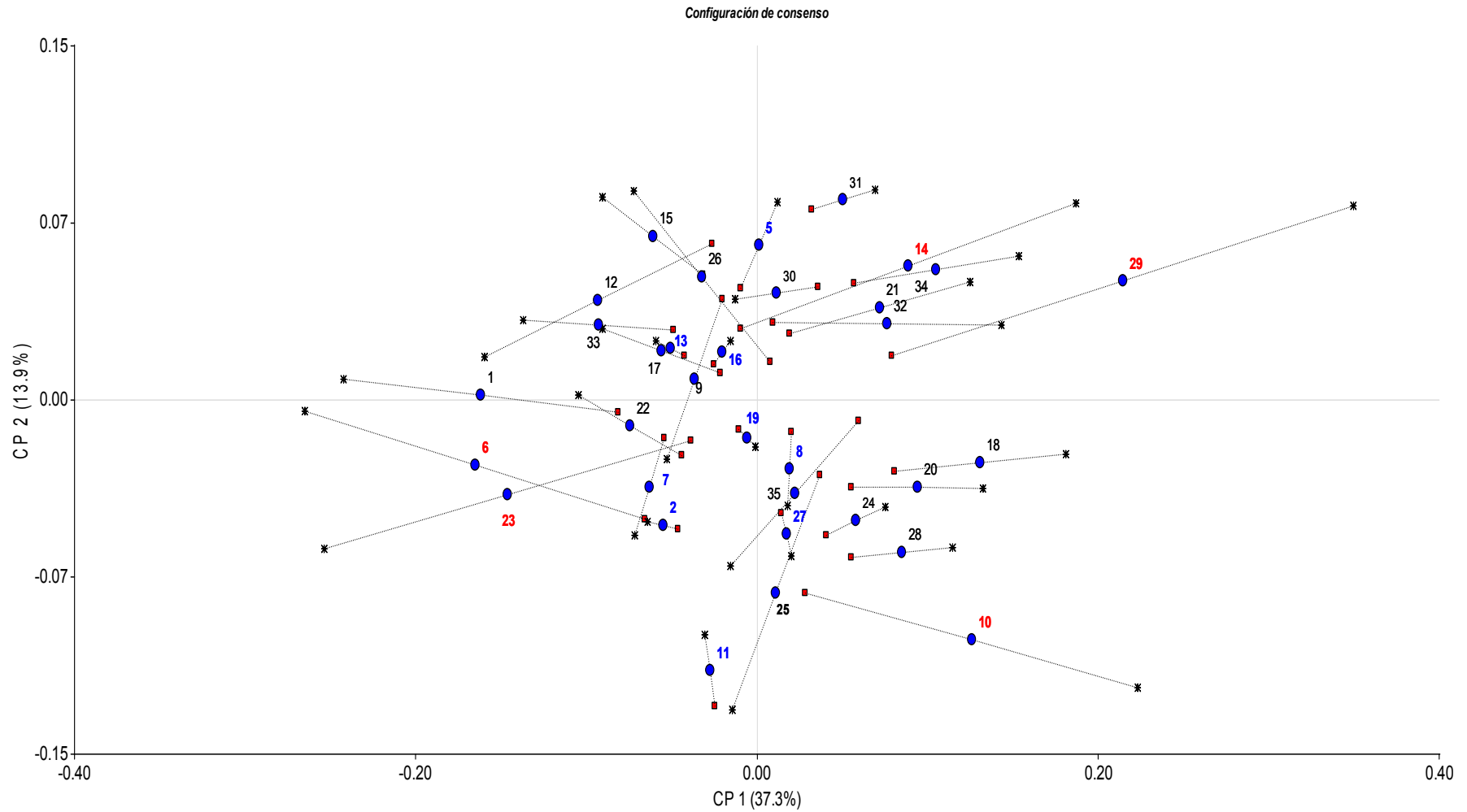
El Análisis de Procrustes Generalizado (APG), provee información acerca de la adecuación de un conjunto de datos, para este caso dado que ambas caracterizaciones son de diferente naturaleza se trabajó con los datos estandarizados. Previamente se realizó el análisis de coordenadas principales (AcoorP) para los datos moleculares y el análisis de componentes principales (ACP) para los datos morfológicos. De este modo para el análisis APG se conformó una matriz con las componentes obtenidas en ambos análisis (AcoorP y ACP). En la Tabla 2.13, se observa los resultados del APG combinando información proveniente de los 15 SSR (Grupo 1) y las 14 variables morfológicas (Grupo 2), el cálculo del cociente entre el consenso (1,36) y la suma de cuadrados total (2,000) consenso de 68% entre el ordenamiento producido por los marcadores moleculares y el producido por marcadores morfológicos.

**Tabla 2.13:** Dato de consenso para el análisis de Procrustes

	Consenso	Residuo	Total	Prop Cons
Grupo1	0,68	0,32	1	0,68
Grupo2	0,68	0,32	1	0,68
Total	1,36	0,65	2	0,68

En la figura 2.9, el punto de consenso se representa con un círculo azul, los datos moleculares con un cuadrado rojo y los morfológicos con un asterisco. Cada punto de consenso se encuentra a una distancia equidistante de los parámetros moleculares y morfológicos, genotipos como 2, 13, 16 y 19 (en azul), tienen la menor distancia de dispersión de los datos de ambas caracterizaciones, seguidos por 5, 7, 8, 11, 22 y 27 (en azul). Mientras que los genotipos 6, 10, 23, 25 y 29 (en rojo) son los que presentan mayor distancia entre ambos datos al punto de consenso, es decir presentan una mayor dispersión entre los datos agronómicos y los datos moleculares. El resto de los genotipos presenta una dispersión de los datos de modo intermedio.





**Figura 2.9:** Punto de consenso (●) entre datos agronómicos (✱) y moleculares (■). En azul los genotipos con menor dispersión entre los datos agronómicos y moleculares, en rojo los genotipos de mayor dispersión y en negro los genotipos con dispersión intermedia.

## DISCUSIÓN

---

### 1. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel morfológico

La población investigada provino de un campo ubicado en la Depresión del Salado, sometida a variaciones temporo-espaciales que promovieron una elevada variabilidad fenotípica entre sus individuos. Estuvo representada por 35 genotipos, clonados tres veces por cada una de las tres repeticiones, y dispuesta en condiciones de planta espaciada en suelo argiudol típico, sin restricciones. Estas condiciones experimentales promovieron que el genotipo expresara plenamente su varianza genotípica y disminuyera la varianza ambiental. Los resultados obtenidos en el presente estudio indicaron la presencia de elevada variabilidad genética entre los genotipos de la población para todos los caracteres morfológicos evaluados. A continuación se presenta la discusión por variable cuyos resultados son coincidentes con la literatura reportada para la especie (Borrajo *et al.*, 1997; Guillén, 2002; Pistorale *et al.*, 2008; Rosso *et al.*, 2008; Andrés *et al.*, 2013).

El **color de hoja** es un carácter cualitativo importante al momento de realizar el descriptor de la variedad sintética y/o cultivar. Está determinado por el contenido de clorofila del mesófilo (Black, 1975) y el grosor de cutícula (Esau, 1987). En el presente estudio la población presentó una elevada proporción de genotipos con hojas color glauco; numerosos autores (Parodi, 1959; Covas, 1959; Nicora, 1978; Guillen, 2002) describieron el color glauco (entre verdoso y azulado) como característico de la especie; sin embargo, otros (Borrajo *et al.*, 1997) determinaron baja proporción de este color en 21 poblaciones naturalizadas de la Depresión del Salado.

El **hábito de crecimiento** y la disposición de las hojas determinan la estructura del canopeo en especies forrajeras y condicionan el manejo de las pasturas (Pearson e Ison, 1994). El hábito de crecimiento puede cambiar dependiendo de la heterogeneidad microambiental, la intensidad y la frecuencia de defoliación y la competencia (Snaydon, 1978). En el presente estudio si bien no se encontró un predominio destacado de algún tipo de hábito, el mayor valor fue para el postrado (37%), seguido por el erecto (33%) y finalmente el intermedio (28%). Diversos estudios (Davies, 1960; Smeatham, 1972; Seaney, 1974) indican que los genotipos con hábito de crecimiento postrado sobreviven mejor que los de tipo erecto en sistemas con defoliaciones continuas y frecuentes, aunque no son los de mayor productividad (Cooper y McColl, 1966; Rhodes, 1971). Otros autores (Borrajo *et al.*, 1997; Guillen, 2002; Ramirez, 2010) encontraron diferentes predominios de hábito erecto e intermedio, asociados al momento fenológico de la especie.

La **altura de planta** es una variable muy afectada por el ambiente, en suelos de buena fertilidad, sin restricciones hídricas y sin competencia, las plantas expresan su máximo potencial genético (Gillet, 1984). También se considera desde el punto de vista de mejoramiento genético por su importancia en la eficiencia de la captación de la luz en estudios de competencia entre plantas (Eagles, 1972; Rhodes y Stern, 1978). Para cada fecha de evaluación se observaron distintos genotipos con mayor y menor altura, sin embargo, se pudo destacar que algunos genotipos siempre estuvieron por encima de la media para las cuatro alturas: 1, 5, 11, 12, 14, 18, 22, 32 y 34. Estos valores de altura obtenidos fueron coincidentes con los descritos por otros autores (Guillén, 2002; Ramirez, 2010), el grado de determinación genética (GDG) para esta variable fue de las más elevadas, presentando valores superiores (Borrajo *et al.*, 1997; Guillén, 2002) e inferiores (Ramirez, 2010) a los observados en la bibliografía. Los coeficientes de variación tanto genotípica ( $CV_g$ ) como fenotípica ( $CV_f$ ), fueron los menores en comparación con el resto de las variables en estudio, pero superiores a los encontrados por otros autores (Guillén 2002; Ramirez, 2010), indicando una mayor variabilidad entre genotipos para este carácter.

El **número de macollos vegetativos** es uno de los principales determinantes del rendimiento de forraje en una pastura (Jewis, 1972; Zarrouh, 1983; Chapman y Lemaire, 1993; Sugiyama, 1995), y podría utilizarse como carácter para la selección indirecta del rendimiento (Rashal y Kholms, 1983). Los resultados obtenidos en este estudio indicaron que existió variabilidad para el número de macollos vegetativos, coincidente con diversos estudios (Borrajo, 1998; Borrajo *et al.*, 1998; Guillén, 2002, Plaza *et al.*, 2016; Pistorale *et al.*, 2008) que alcanzaron variación de 12 a 524 macollos por planta en varias poblaciones naturalizadas. En tanto para los parámetros genéticos el GDG,  $CV_g$  y  $CV_f$ , los valores fueron bajos y similares a los valores determinados por numerosos autores (Guillén, 2002; Ramirez, 2010) e inferiores a los registrados por Pistorale *et al.* (2008).

El **diámetro de planta** es una variable a considerar en los programas de mejoramiento de especies forrajeras ya que está fuertemente correlacionado con la producción de materia seca (Álvarez, 2010). Existieron diferencias significativas para este carácter, con valores promedios superiores a los registrados por otros autores (Palacios *et al.*, 2015; Plaza *et al.*, 2016), en cuanto a los parámetros genéticos (GDG,  $CV_g$ ,  $CV_f$ ) es poca la información hallada para esta variable, sin embargo, los valores obtenidos fueron intermedios, indicando variabilidad media (Guillén, 2002).

La **producción de materia seca** es una de las variables de mayor importancia para seleccionar en los programas de mejoramiento. En el presente estudio se detectaron

diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre los 35 genotipos para los dos cortes realizados; en el primero los genotipos produjeron baja cantidad de materia seca y fue consistente con lo reportado por otros autores durante el primer año del cultivo (Bertín, 1999). En el segundo año el rendimiento fue superior y reflejó el acumulado de verano-otoño y principios de invierno, con diferencias significativas entre genotipos. Se destacaron como altamente productivos en ambos cortes los genotipos: 1, 4, 5, 6, 10, 11, 14, 16, 21, 22 y 32. El GDG en ambos cortes fue intermedio a bajo, mientras que los CVg y CVf fueron elevados. Las correlaciones con el diámetro de mata ( $r=0,63$ ) y con la altura previa al segundo corte ( $r=0,66$ ) fueron elevadas y podrían utilizarse estos caracteres para aplicar selección indirecta en variables tempranas y de fácil medición (Rashal y Kholms, 1983).

La **emergencia de espigas** está asociada a la fecha de floración y es afectada por diversos factores ambientales (Rhebergen, 1985; Ernst, 1987; Breese y Charles, 1962). En el presente estudio se observó variabilidad en la emergencia de espiga por genotipo; los genotipos 32 y 34 fueron los más precoces y 12, 1, 16, 7 y 11 fueron los más tardíos. Diversos autores (Fernández Grecco *et al.*, 1998; Vogel y Moore, 1998; Borrajo *et al.*, 1997; Guillén, 2002; Ramírez, 2010) determinaron grupos de precocidad asociados a diferentes requerimientos fotoperiódicos. Los resultados obtenidos indicarían alguna probabilidad de lograr progresos en la selección por grupos de precocidad.

La **altura al 100% de floración** es un carácter asociado al rendimiento de semillas y se lo utiliza como descriptor botánico (Tyler *et al.*, 1985). En algunos cultivos forrajeros alturas excesivamente altas producen el vuelco de las plantas y reducción del rendimiento de semilla (Hebblethwaite e Ivins, 1978; Burbigge *et al.*, 1978; Chilcote *et al.*, 1984). En el presente estudio se detectaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,001$ ) en la altura a floración entre genotipos. El rango de altura a floración varió entre 65 cm y 175 cm, y la mayor proporción de los genotipos (43 %) alcanzó entre 100 cm y 120 cm de altura.

El **número de espigas** es uno de componentes más importante del rendimiento de semilla y está altamente correlacionado con la cantidad de macollos vegetativos (Smith *et al.*, 1994). En el presente estudio los genotipos mostraron variabilidad y elevada producción. Los genotipos destacados fueron: 1, 5, 6 y 25 con valores superiores a 74 espigas/planta. Asimismo, los análisis multivariados agruparon estos genotipos como de perfiles productivos similares. Los parámetros genéticos fueron elevados y superiores a los registrados por otros autores en poblaciones (Guillén, 2002; Pistorale *et al.*, 2008) y en familias de medio hermanos (Ramírez, 2010). Estos resultados indicarían posibilidad de lograr progresos en la selección.

El **largo de espiga** generalmente está asociado al peso de semilla y es una variable muy dependiente del origen del germoplasma (Andrés *et al.*, 1998; Ruíz Díaz y Andrés, 1998). En el presente estudio se encontró variabilidad entre los genotipos, y se destacaron los que lograron plantas con largo de espigas superiores a 35 cm (1, 5, 26 y 35). El GDG para este carácter fue elevado y similar al de otros autores (Guillén, 2002; Ramirez, 2010; Lavandera, 2014; Plaza *et al.*, 2016).

El **peso de mil semillas** es determinante del rendimiento en semilla. En el presente estudio se encontró variabilidad significativa al igual que otros estudios (Pistorale *et al.*, 2008; Lavandera, 2014), y los genotipos con mayores valores fueron 7, 10, 23, 24 y 27. El GDG fue elevado indicando la existencia de variación genética para este carácter.

El **peso total de semillas** es otro carácter de gran interés en todos los programas de mejoramiento de especies forrajeras, y es indicativo del éxito en la difusión del nuevo cultivar, ya que está directamente asociado al rendimiento de semillas. Este carácter es altamente dependiente del ambiente y ha sido muy bien estudiado (Bugge, 1984; Elgersma *et al.*, 1989; Castaño, 2005). En el presente estudio los genotipos demostraron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ). Los genotipos que se destacaron fueron: 2, 5, 6, 8, 10, 15, 22, 24 y 25, tanto el GDG como CVg y el CVf presentaron valores elevados los que indicarían la existencia de variación genética posible de seleccionar, estos resultados fueron coincidente con la bibliografía (Guillén, 2002; Pistorale *et al.*, 2008). La correlación obtenida con el número de espigas ( $r=0,79$ ) fue la más elevada y significativa, al igual que en otros estudios en forrajeras templadas (Ceron, 1993; Barufaldi, 1999; Guillen, 2002)

## 2. Estudio de la variabilidad genética de la población a nivel molecular

En el presente estudio, se demostró la factibilidad de realizar transferencia de marcadores moleculares (SSR) de *Lolium perenne*, *Schedonorus arundinaceus* y *Triticum aestivum* a *Thinopyrum ponticum*, y el porcentaje de transferencia fue elevado, considerando la bibliografía consultada (Bárbara *et al.*, 2007; Mullan *et al.*, 2005; Cuyeu, 2008). Este resultado es de gran utilidad en la especie dada la poca información genómica propia de la misma.

Todos los SSR que amplificaron fueron polimórficos presentando 144 alelos para los 15 SSR estudiados, la cantidad de alelos de cada SSR y el peso molecular (pb) fue coincidente con la bibliografía consultada (Cuyeu, 2008; Acuña, 2009; Randazzo, 2015). En cuanto a los parámetros genéticos observados, todos los *loci* fueron polimórficos, con un

valor elevado de heterocigosidad promedio de 0,92, lo cual es consistente con la bibliografía por tratarse de una especie alógama en la que la mayoría de los individuos serán heterocigotas (Acuña, 2009; Cuyeu *et al.*, 2013).

Respecto al comportamiento de los SSR fueron similares a los reportados por la bibliografía (Jones *et al.*, 2001; Saha *et al.*, 2004, 2006; Vandewalle, 2007; Cuyeu, 2008; Acuña, 2009; Randazzo, 2015), tanto en la cantidad de alelos como el peso molecular de los mismos. Asimismo, el contenido de información polimórfica (PIC) fue de 0,31, este es una medida de la diversidad genética y provee una estimación del poder discriminatorio de cada microsatélite, contemplando el número de alelos y sus frecuencias relativas en la población, valores similares obtuvieron Cuyeu (2008), Acuña (2009), Randazzo (2015) utilizando estos SSR en otras especies.

En tanto que al analizar la consistencia en el agrupamiento de los individuos los resultados del ACoorP indicaron que el 20,98% del total de la variabilidad detectada, fue explicado mediante tres componentes principales. Estos resultados son coincidentes con los reportados por Che *et al.*, (2011), mientras que otros autores (Cuyeu, 2008; Randazzo, 2015) presentaron mayores valores. Se corroboró distancia entre algunos genotipos como el 2, 10, 13, 21 y 35. Los resultados del AC, permitieron discriminar todos los individuos al 50% y algunos agrupamientos al 65% de la distancia planteada, demostrando importante variabilidad genética a nivel molecular entre estos genotipos dentro de la población estudio.

### **3. Análisis conjunto de la caracterización morfológica y molecular**

En el presente trabajo se demostró la existencia de variabilidad genética morfológica y molecular entre los 35 genotipos que componen la población de agropiro alargado, a través del abordaje conjunto de ambas caracterizaciones. Adicionalmente se evidenció la utilidad de ambas técnicas en el proceso de caracterización de genotipos en etapas tempranas de programas de mejoramiento genético.

El análisis de procrusters comparó ambos análisis multivariados: morfológico y molecular, es escasa la bibliografía de este tipo de análisis en trabajos científicos, sin embargo, algunos autores sostienen que su aplicación ha resultado en la mejor alternativa para interpretar agrupaciones de diferentes cultivares en *Cucumis spp* (Bramardi *et al.*, 2005), poblaciones de maíz (Reif *et al.*, 2005; Defacio *et al.*, 2007) y de *Lolium multiflorum* (Acuña, 2009). De este modo en el presente estudio el análisis conjunto de los datos permitió agrupar los genotipos a través de ambas caracterizaciones.

## CONCLUSIONES

---

Los resultados obtenidos en el presente capítulo permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- La caracterización morfo-fisiológica de los 35 genotipos de agropiro alargado realizada a campo y en condición de planta espaciada, permitió detectar una importante variabilidad genética para todos los caracteres estudiados.
- La variabilidad fenotípica observada para los caracteres morfológicos expresó un componente genético elevado.
- Se logró transferir marcadores SSR genómicos de *Lolium perenne*, *Schedonorus arundinaceus* y *Triticum aestivum* a *Thinopyrum ponticum*.
- A través del análisis conjunto de los datos morfológicos y moleculares se obtuvo una estructura de consenso capaz de sintetizar toda la información disponible.

## **CAPITULO III**

---

# **COMPORTAMIENTO DE LA POBLACIÓN CRECIENDO EN CONDICIONES HALOMÓRFICAS EN HIDROPONIA**



## INTRODUCCIÓN

---

En Argentina existen grandes extensiones de suelos halomórficos, caracterizados por presentar exceso de sales solubles, localizados principalmente en la planicie Chaco Pampeana, el sureste de Córdoba y este de Santa Fe, los bajos Submeridionales (Pcia Santa Fe), el oeste pampeano y la Depresión del Salado (Pcia. Buenos Aires). También se presentan afloramientos halomórficos en sectores de suelos agrícolas de la región pampeana, con cultivos de mayor productividad (Lavado, 2009). En términos generales los campos bajos salinos-sódicos, con problemas de drenaje, muestran una baja productividad de forraje del orden de 2 t MS/ha\*año (Scheneiter, 2008), debido a la presencia de napas cercanas a la superficie y subsuelos salinos.

En particular los suelos afectados por la salinidad (Munns, 2004; Singh, 2006), se categorizan en dos tipos, los suelos alcalinos o sódicos que cuentan con un exceso de sodio intercambiable, pH elevado (mayor a 8,5), baja conductividad eléctrica (CE, menor a 4 dS/m) y porcentaje de sodio intercambiable (PSI) elevado (mayor a 15); y los suelos salinos que presentan una alta concentración de cationes de sodio, una elevada conductividad eléctrica (mayor a 4 dS/m), un pH menor a 8,5 y un PSI menor a 15. Los suelos salino-sódicos poseen una alto PSI, un elevado pH y una alta CE (Richards, 1954). En estas condiciones solo algunas especies vegetales adaptadas sobreviven debido a que la salinidad dificulta la absorción de agua y la sodicidad genera degradación estructural del suelo, deficiencias de algunos nutrientes y exceso de otros, presentando desbalances a plantas cultivadas (Lavado y Taboada, 2009a, 2009b).

En la Provincia de Buenos Aires, la superficie destinada a la ganadería tiene una extensión de 15 millones de ha ubicadas en la Cuenca del Río Salado, por ser consideradas marginales para la agricultura (Rearte, 2007). Esta situación ha promovido una creciente demanda de tecnologías que garanticen una adecuada oferta de nutrientes para el ganado y mantengan elevados niveles productivos (Viglizzo *et al.*, 2010).

Las especies forrajeras nativas y/o naturalizadas son un recurso forrajero disponible y a menudo poco explorado en los ambientes halomórficos. Entre los atributos evolutivos más importante de esas especies ha sido su adaptación a condiciones ambientales y de manejo extremas, como suelos anegables o secos, con altas concentraciones salinas, o suelos poco fértiles, bajo condiciones de sobrepastoreo o subpastoreo. Esta característica evolutiva ha promovido una importante variabilidad genética y plasticidad fenotípica en estas

especies, y son por lo tanto consideradas una fuente de germoplasma que puede proveer la variabilidad y plasticidad necesarias para desarrollar futuros programas de mejoramiento genético (Duyvendak y Luesink, 1979).

En programas de mejoramiento genético de especies forrajeras, cuyo objetivo principal es desarrollar cultivares con tolerancia incrementada a condiciones de suelos con halomorfismo, se debe contar con información referida a la variabilidad genética presente en la población a estudiar y la respuesta plástica o interacción genético-ambiental de los genotipos que componen dicha población. Estas respuestas permiten seleccionar genotipos tolerantes y susceptibles al estrés producido por diferentes tipos de sales (ambientes). Cabe destacar que distintos tipos de sales promueven diferentes reacciones de los genotipos ya sea a través de caracteres morfológicos como fisiológicos, factibles de registrar.

Para estudiar el efecto de la salinidad en los cultivos se han utilizado caracteres agronómicos típicos como, sobrevida, rendimiento, altura de la planta, área foliar, índice de crecimiento relativo, entre otros. Por lo general la caracterización a campo es un método poco efectivo, en particular en suelos con elevada heterogeneidad física y química, motivo por el cual se han propuesto el uso de técnicas como la hidroponía, que contempla el uso de distintos tipos y concentraciones de sales, en condiciones experimentales semi-controladas, que reflejan con mayor precisión la expresión del genotipo (Ashraf y McNeilly, 1988; Munns y James, 2003; Arzani, 2008). La aplicación de indicadores bioquímicos de la tolerancia es un método promisorio que complementa la evaluación morfológica y facilita una selección temprana de los genotipos tolerantes (Ashraf y Harris, 2004; 2005). Entre algunos de los indicadores más utilizados se destacan el contenido de clorofila y el contenido de malondialdehído (MDA). Existen numerosos estudios sobre el crecimiento de las plantas y los mecanismos fisiológicos que afectan la tolerancia a la salinidad (Noble y Rogers, 1992; Franco *et al.*, 1993; de Luca, 2008; Lanza Castelli *et al.*, 2008; Griffa *et al.*, 2010; Franco, 2011; Ribotta, 2011; Quiroga *et al.*, 2016). Muchos de estos estudios fueron realizados en etapas de crecimiento inicial de diversas gramíneas forrajeras, y en términos generales se determinó que el efecto de la salinidad expresado en diferentes concentraciones de NaCl el crecimiento de las plantas.

La caracterización morfofisiológica de los genotipos, que integran una población, provee de datos para la estimación de la variabilidad genética potencial y de la heredabilidad en sentido amplio o Grado de Determinación Genética (GDG) (Falconer, 1989). Sin bien, ésta estimación engloba los efectos aditivos, dominantes y epistáticos, se infiere que, si un

carácter tiene un alto GDG, indica que los procesos de diferenciación poblacional (posibles efectos fundadores, deriva y selección natural) han sido efectivos y es factible realizar selección sobre ellos (Falconer, 1989). Diversos autores estimaron la heredabilidad en caracteres que determinan tolerancia a salinidad (Ashraf *et al.*, 1986 a, b; Ashraf *et al.*, 1987; Johnson *et al.*, 1992; Ashraf *et al.*, 1995; Franco, 2011; Affinito, 2014) y demostraron que muchos de éstos podrían ser utilizados para aplicar selección.

El ambiente puede definirse como cualquier factor o conjunto de factores que influyen en el carácter de interés (Lynch y Walsh, 1998). En pasturas establecidas, las plantas individuales encuentran mayor variación ambiental a lo largo del espacio y del tiempo a causa de los efectos producidos por el pastoreo y la competencia con otras especies. De acuerdo a la forma que toma la variación ambiental, las poblaciones exhiben respuestas de distinta naturaleza (Snaydon, 1987). La respuesta diferencial de los genotipos de la población a diferentes condiciones ambientales genera una respuesta denominada interacción genotipo-ambiente, la que se expresa en términos de estabilidad y adaptabilidad al ambiente. Esta interacción es particularmente importante en caracteres cuantitativos porque permite seleccionar los genotipos en función del orden de mérito que se les asigna acorde al criterio de selección establecido (Flores *et al.*, 1998). Los procedimientos utilizados para cuantificar la interacción genotipo-ambiente (IGA) se conocen genéricamente como modelos y tienden a verificar el comportamiento de los genotipos cuando son evaluados en múltiples ambientes, para realizar recomendaciones en los programas de mejoramiento genético. Entre los modelos conocidos se destaca el de Efectos Aditivos Principales e Interacciones Multiplicativas (AMMI), el que consiste en la representación de genotipos y ambientes en un gráfico bidimensional GA biplot (Gauch, 2006), y se basa en análisis estadísticos combinados de ANOVA y de componentes principales (ACP). El análisis Biplot se ha convertido en una herramienta estadística muy importante en el fitomejoramiento y en la investigación científica.

De acuerdo a la frecuencia con que ocurre el cambio ambiental y la extensión que abarca, los organismos responden genéticamente o a través de modificaciones morfofisiológicas que no implican alteraciones genéticas. Una de las respuestas adaptativas a la variación ambiental más común, a pequeña escala en espacio y tiempo, es la Plasticidad Fenotípica. La plasticidad fenotípica debida al ambiente tanto biótico como abiótico beneficia a un individuo con la capacidad de ser plástico permitiéndole alterar su morfología, fisiología, comportamiento e historia de vida, en respuesta a cambios en las condiciones ambientales (Bradshaw, 1965; Schlichting, 1986, 2002; Miner, 2005). La

amplitud y extensión de la respuesta plástica puede variar entre especies estrechamente relacionadas (Marshall *et al.*, 1986), entre poblaciones (Schmidt y Levin, 1985; Andrés, 1991) y aún entre individuos dentro de poblaciones (Rice, 1983). Entre las respuestas plásticas más comunes registradas en pasturas, están las alteraciones en el número y tamaño de macollos en gramíneas (Tallowin, 1981; Tallowin *et al.*, 1995), y la reducción de tamaño del foliolo y la longitud del pecíolo en *Trifolium repens* L. (Wilman y Asiegbu; 1982). Desde el punto de vista del mejoramiento genético, interesa detectar genotipos o poblaciones con una amplia respuesta plástica, es decir, la habilidad de responder a una diversidad de situaciones ambientales.

Entre las gramíneas perennes más cultivadas en suelos con limitaciones en Argentina, se destaca el agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth *et Dewey*) caracterizada por su tolerancia a suelos bajos y salitrosos, su gran resistencia a sequías e inundaciones prolongadas (Dewey, 1960; Covas y Ballari, 1969; Shannon, 1985; Bleby *et al.*, 1997; García *et al.*, 2002; Casas, 2011) y por su gran potencial como cultivo forrajero (Covas, 1959; Maddaloni y Bertín, 1990; Smith y Sutherland, 1996; Harrison *et al.*, 2001; Borrajo *et al.*, 1998; Gándara y Gómez, 1987; Aello *et al.*, 1983; Laplace *et al.*, 1994). El cultivo de agropiro alargado es de desarrollo inicial lento, luego forma grandes matas y produce abundante forraje. Si bien es una especie forrajera muy utilizada en pasturas para suelos bajos con problemas de drenaje, se desconoce el componente genético heredable de su comportamiento en condiciones de suelos halomórficos caracterizados por el exceso de diferentes tipos de sales.

Por este motivo el estudio del crecimiento de genotipos adultos, provenientes de una población naturalizada en la Depresión del Salado, en halomorfismo en hidroponia, es de gran importancia para la generación de conocimientos que aporten a los programas de mejoramiento de la especie.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

### Hipótesis

- Bajo condiciones halomórficas en hidroponia, los genotipos de la población estudiada expresan diferencias morfo-fisiológicas en el crecimiento que permiten agruparlos como tolerantes y susceptibles.
- La variabilidad fenotípica observada para los caracteres morfo-fisiológicos expresa un componente genético diferencial que depende del ambiente (tipo de sales).
- En diferentes condiciones ambientales (exceso de sales), la población estudiada expresa un elevado componente plástico heredable.

### Objetivos

- Detectar diferencias morfo-fisiológicas en el crecimiento de los genotipos en distintas condiciones halomórficas en hidroponía.
- Estimar componentes de varianza fenotípica y heredabilidad en sentido amplio en caracteres morfo-fisiológicos en los diferentes ambientes.
- Agrupar a los genotipos como tolerantes, intermedios y susceptibles a los diferentes ambientes.
- Determinar la plasticidad fenotípica heredable en caracteres morfo-fisiológicos de los genotipos creciendo en distintas condiciones halomórficas en hidroponia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 1. La población estudiada

La población caracterizada en el capítulo anterior se evaluó en invernáculo, en condiciones semi-controladas creciendo en hidroponia bajo diferentes sustratos halomórficos.

### 2. Acondicionamiento en invernáculo, siembra y diseño aplicado

#### 2.1 Diseño experimental

El diseño experimental fue parcelas divididas en bloques con tres repeticiones y cuatro tratamientos que simulaban distintos tipos de suelo: 1. Control; 2. Salino; 3. Sódico; 4. Salino-Sódico (Tabla 3.1). La parcela mayor correspondió al ambiente y la parcela menor al genotipo (Foto 3.1).

#### 2.2 El sustrato y las soluciones

El sustrato utilizado fue arena y perlita en proporción 1:1 colocado en macetas perforadas de 4l. Previo al inicio del estudio la arena fue lavada con agua de canilla y expuesta a la intemperie para su lavado con agua de lluvia protegida con una cubierta de fieltro para protección de impurezas mayores. Se realizaron pruebas en muestras de arena para descartar sales y presencia de materia orgánica, aplicando ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno respectivamente.

Las soluciones de riego utilizadas se prepararon en base a la solución nutritiva Hoagland según protocolo (Hoagland y Arnon, 1950) utilizando agua destilada (solución concentrada), agua de canilla (pH=7,5; CE=1,06 dS/m) y las sales específicas para cada tratamiento (Tabla 3.1). El preparado de la solución de riego salina, fue con agua de canilla a la cual previamente se le agrego ácido sulfúrico, para disminuir el pH a valores de 6,5-7,5.

#### 2.3 Inicio del experimento

El 09 de agosto de 2013 se procedió a trasplantar los clones en las macetas perforadas de 4l con mezcla de arena lavada y perlita. Estos fueron regados con agua de canilla durante cinco días y con la solución nutritiva Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950)

durante otros 15 días, para su acondicionamiento, hasta dar inicio a la aplicación de los tratamientos. La aplicación de los tratamientos, se realizó de manera gradual, para evitar un estrés por shock (Noaman *et al.*, 2002; Parida y Das, 2005). Una vez aplicados los tratamientos, cada maceta fue monitoreada cada 10 días a través del agua de colecta del riego, y se midió el pH y la CE con equipos portátiles (Foto 3.2) y en algunos muestreos con equipos de mesada correspondiente al Laboratorio Regional de la EEA Pergamino, cuando fue necesario se realizaron lavados de sales con agua de pH 6,0-6,5.

**Tabla 3.1:** Tratamientos en los que se dispuso el germoplasma a evaluar.

<b>Características</b> <b>Tratamientos*</b>	<b>CE (dS/m)</b>	<b>pH</b>	<b>Concentración (mM)</b>	<b>Sales empleadas</b>
<b>Control</b>	<4	6,5-7,5	-	-
<b>Sódico</b>	<4	>8,5	20;20	Bicarbonato de Sodio (HCO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> ) y Carbonato de Sodio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
<b>Salino</b>	>4	<8,5	250	Cloruro de Sodio (ClNa)
<b>Salino-Sódico</b>	>4	>8,5	250; 20; 20	ClNa; HCO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> ; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

\*Según valores USDA (Richards, 1954).

**NOTA:** En adelante los tratamientos se denominaron ambientes.





Foto 3.1: Disposición del ensayo en invernáculo, 420 macetas de 4l.





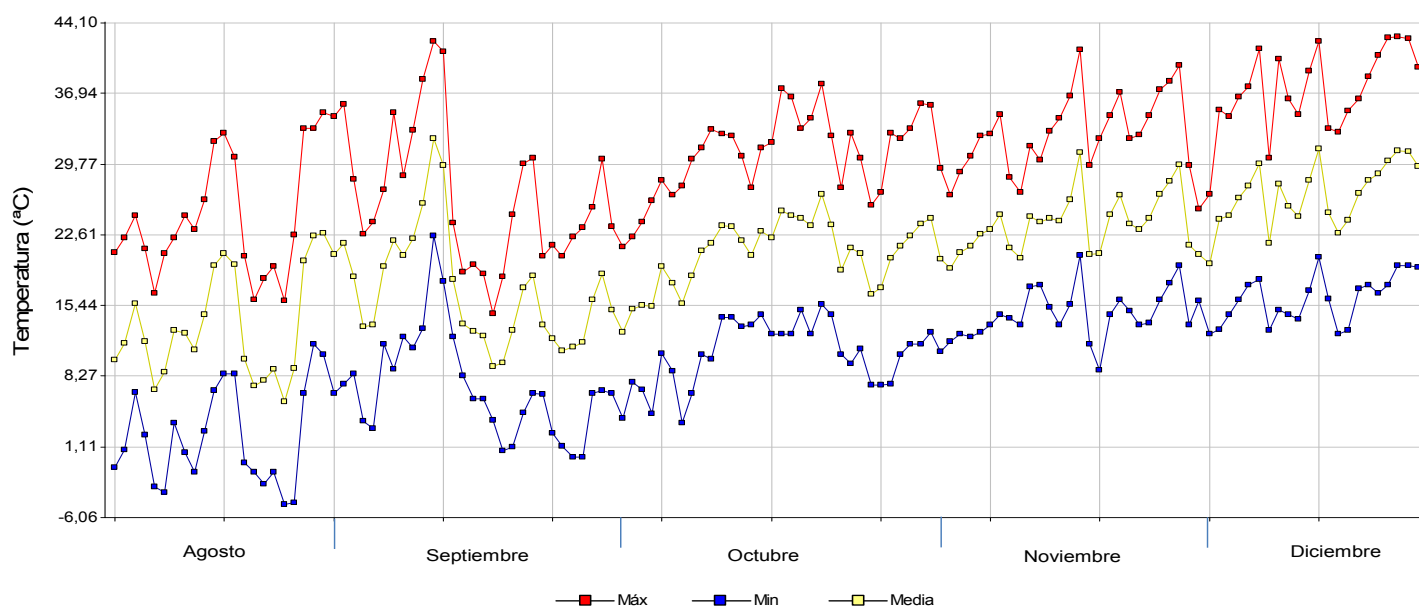
**Foto 3.2:** Colecta y monitoreo (pH y CE) de solución de drenaje en cada maceta.

#### **2.4 Caracteres evaluados**

Entre los meses de septiembre y diciembre de 2013 se realizó la fenotipificación morfológica y fisiológica, para ello se registraron 17 caracteres en planta individual en diferentes fechas (Tabla 3.2). A lo largo del estudio se realizaron tres cortes de biomasa aérea en el período invierno-primaveral. En la Figura 3.1, se observan los datos de temperatura correspondiente al período mencionado dentro de invernáculo.

**Tabla 3.2:** Caracteres, abreviatura, unidad y fecha de evaluación (fecha y en días desde aplicado los tratamientos) para los 35 genotipos en los cuatro ambientes.

Caracteres	Carácter	Abreviatura, Unidad	Fecha de Evaluación	
			Fecha	Días (desde aplicados los tratamientos)
<b>Morfológicos</b>	Altura al primer corte	Alt-1 (cm)	15/10/13	30
	Altura rebrote primer corte	Alt-R1 (cm)	28/10/13	38
	Altura al segundo corte	Alt-2 (cm)	18/11/13	60
	Altura rebrote segundo corte	Alt-R2 (cm)	26/11/13	68
	Altura al tercer corte	Alt-3 (cm)	17/12/13	90
	Índice de verdor	SPAD, unidad spad	16/10/13	27
	Número macollos vegetativos al primer corte	Nmac1	15/10/13	30
	Número macollos vegetativos al segundo corte	Nmac2	18/11/13	60
	Número macollos vegetativos al tercer corte	Nmac3	17/12/13	90
	Producción de materia seca primer corte	PS1 (g)	15/10/13	30
	Producción de materia seca segundo corte	PS2 (g)	18/11/13	60
	Producción de materia seca tercer corte	PS3 (g)	17/12/13	90
	Producción de materia seca acumulada de los tres cortes	PMSA (g)	17/12/13	90
	Tasa de crecimiento diario	TCD (mm/día)	30/10/13 al 15/11/13	41 a 57
	Área foliar específica en peso fresco por macollo por planta	AFE (cm <sup>2</sup> /g)	15/11/13	57
<b>Fisiológicos</b>	Acumulación de iones: sodio, potasio, calcio y magnesio	AI (nmoles/mgPS)	25/11/13	67
	Índice de Tolerancia	IT	PS1-PS2-PS3 y PMSA	Acorde al momento de corte



**Figura 3.1:** Temperaturas: máxima (Máx), mínima (Min) y media en °C, dentro de invernáculo.

A continuación, se indican los procedimientos de los registros por carácter evaluado:

**Altura de planta (Alt):** Las mediciones se realizaron en cm, con una regla graduada apoyada en el centro de cada planta hasta el extremo superior.

**Número de macollos vegetativos (Nmac):** por conteo directo del número de macollos producido por cada planta.

**Peso de la materia seca primer, segundo y tercer corte (PS1, PS2, PS3):** los mismos se efectuaron con hoz a una altura de corte de 6 cm (altura de puño) desde el nivel del sustrato de la maceta. Cada planta fue identificada y conservada en bolsas de papel tipo kraft, se secó en estufa de aire forzado (60°C) por un período de 48 hs, hasta lograr un peso seco constante. Luego se pesó en balanza OHAUS TS4ks (Máx 4000g, d=0,1g) en gramos por planta.

**Peso de la materia seca acumulada de los tres cortes (PMSA):** correspondió a la suma de la materia seca en gramos de los tres cortes realizados.

**Índice de verdor (SPAD):** se midió el contenido relativo de clorofila foliar de las hojas, a través un medidor portátil de clorofila SPAD-502 marca Minolta, y de cada planta se obtuvo un promedio de tres hojas completamente expandidas del tercio medio de la lámina, seleccionadas al azar. Los valores se expresaron en unidades SPAD, a mayores unidades SPAD mayor contenido de clorofila (Konica Milota Sensing Ing., 2009).

**Acumulación de iones (AI):** se realizó el muestreo, aproximadamente a 10mg de tejido fresco de láminas y vainas de hojas jóvenes, se le agregó 1 ml de HCl 0,1N. Los tubos se agitaron y se sumergieron en un baño térmico a 60 °C durante 2 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y centrifugó durante 5 minutos a 10.000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se determinaron las concentraciones de sodio,

potasio y calcio por HPLC en el Centro de Investigación Agropecuaria-IFRGMV-INTA. **Tasa de crecimiento diario en mm/día (TCD)**: se realizó la marcación de un macollo en el cual se midió cada 48hs, largo y ancho de hoja, según Bertín, 1993. **Área foliar específica en peso fresco por macollo (AFE)**: Finalizada las mediciones del macollo marcado para la tasa de crecimiento diaria, se procedió a cortar el mismo y se pesó inmediatamente en balanza Radwag WTB200 (Máx 200g, d=0,001g), luego se realizó el área foliar en equipo Licor LI-3100C. Y se realizó el peso específico en peso fresco ( $\text{cm}^2/\text{g}$ ). **Índice de tolerancia a la Salinidad (IT)**: La Tolerancia a la salinidad se estimó a través del cociente entre la producción de biomasa seca aérea acumulada de cada plántula (PMSA) en halomorfismo y el PMSA promedio de las plantas en el control (Hannon y Bradshaw, 1968; Ashraf *et al.*, 1986b; Maas, 1986; Shannon, 1997; Ali *et al.*, 2002; Argentel *et al.*, 2009). Es una medida de la reducción de una variable en un determinado tratamiento ( $X_t$ ) respecto de la misma variable en el control ( $X_c$ ),  $IT = X_t / X_c$

### 3. Análisis de la información

Todos los datos obtenidos fueron analizados a través de modelos lineales mixtos utilizando Infostat® en interfaz con R, este método permite comparar el comportamiento promedio de los genotipos para los diferentes caracteres, y se basa en la estimación de los componentes de varianza, por medio del estimador de máxima verosimilitud restringida (RELM) (Di Rienzo *et. al.*, 2012). Previo al análisis se corroboró la distribución normal de los residuos y la homogeneidad de varianza residual, dado que los modelos mixtos se basan en el supuesto de que los efectos aleatorios y los errores son independientes y se distribuyen normalmente (Balzarini *et. al.*, 2015). Cuando algún supuesto no se cumplió, se corrigió a través de la modelación de los datos, en el marco teórico de los modelos lineales mixtos, eligiendo para cada variable el modelo que menor valor de AIC y BIC presentó. Una vez corroborados los supuestos se aplicó análisis de variancia, se estimaron los componentes y se realizó comparación de medias. Por último, se aplicaron los análisis multivariados necesarios. A continuación, se detalla cada uno de los análisis.

#### 3.1 Análisis de variancia entre genotipos

Con el fin de analizar la significancia de las variancias de los diferentes caracteres entre los genotipos se realizaron análisis inter-genotipos para cada carácter. Se utilizó un modelo de parcelas divididas en un arreglo en bloques:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \gamma_j + \delta_{ij} + \beta_k + \rho_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  representa la respuesta observada en el k-ésimo bloque, i-ésimo ambiente y j-ésimo genotipo,  $\mu$  es la media general de la respuesta,  $T_i$  representa el efecto del i-ésimo ambiente,  $\gamma_j$  representa el efecto del j-ésimo genotipo y  $\delta_{ij}$  representa el efecto de la interacción ambiente\*genotipo. Por otra parte,  $\beta_k$ ,  $\rho_{ik}$  y  $\varepsilon_{ijk}$  corresponde a efectos aleatorios de los bloques, de las parcelas dentro de los bloques y de los errores experimentales. Luego de realizar este análisis con el objetivo de detectar que genotipos difirieron significativamente en la media de los caracteres evaluados, se realizó la *prueba t* para la diferencia mínima significativa [(LSD, “*least significance difference*”; DGC, (Di Rienzo *et al.*, 2012)].

### 3.1.1 Estimación de componentes de variancia por ambiente

Los componentes de variancia para cada variable se estimaron a partir de los modelos lineales mixtos del paquete estadístico Infostat® en interfaz con R (Di Renzo *et al.*, 2012). Los genotipos y las repeticiones se consideraron como efectos aleatorios, de este modo se obtuvieron los parámetros de los efectos aleatorios: desvíos y correlaciones.

$$\sigma_g^2 = (\delta_g)^2$$

$\sigma_g^2$  = Variancia genética

$\delta_g$  = Desvío genético

$$\sigma_e^2 = (\delta_e)^2$$

$\sigma_e^2$  = Variancia ambiental

$\delta_e$  = Desvío ambiental

$$\sigma_f^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2$$

$\sigma_f^2$  = Variancia fenotípica

### 2.4.1 Estimación del grado de determinación genética (GDG) por ambiente

Una vez obtenidos las estimaciones de los componentes de variancia a partir del análisis de variancia, se estimó el GDG (Burton, 1952; Burton y De Vane, 1953; Shing *et al.*, 1993):

$$GDG = \sigma_g^2 / \sigma_f^2$$

### 3.1.2 Estimación de la correlación fenotípica por ambiente

La asociación entre dos caracteres puede explicarse tanto por efectos genéticos como por efectos ambientales o por ambos, las causas ambientales de la asociación de los valores fenotípicos pueden acentuar o atenuar los causales genéticos de la correlación (Mariotti, 1986). La asociación entre dos caracteres que pueden ser directamente observados se determina a través de la medición de ambos caracteres en un número de individuos de la población, esto se realiza para conocer el grado de asociación entre los mismos para ser utilizados en futuros procesos de selección. En el presente estudio se realizó la correlación fenotípica a través del paquete estadístico Infostat® mediante el coeficiente de correlación de Pearson, el cual mide la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales y asume valores en el intervalo [-1;1] y el signo indica la dirección de la asociación. Solo se discutirán aquellas correlaciones fenotípicas significativas ( $p < 0,05$ ) consideradas de mayor importancia desde el punto de vista de un programa de mejoramiento.

## 4. Análisis Multivariado

Con los datos obtenidos de las variables morfo-fisiológicas, se decidió aplicar análisis multivariado con el objetivo de detectar diferencias y/o similitudes entre los genotipos (Crisci y Lopez Armengol, 1983). Los análisis aplicados fueron: Análisis de Componentes Principales y Análisis de Conglomerados Jerarquizado, a través del paquete estadístico Infostat®.

El Análisis de Componentes Principales (ACP) se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo de este análisis es poder condensar la información obtenida, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad posible.

Por su lado el Análisis de Conglomerados Jerarquizado o Cluster es una técnica de agrupamiento que se basa en las similitudes o distancias entre las observaciones o variables para ello se utilizó como medida de distancia la distancia euclídea. Los resultados del agrupamiento se pueden observar a través de un dendrograma y el método empleado

UPGMA “*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*” o “Método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada”.

#### 4.1 Análisis Multiambiental a través de AMMI

Los datos obtenidos del comportamiento de los genotipos en los diferentes sustratos fueron analizados aplicando el modelo AMMI, combinado dos análisis estadísticos, primero un ANOVA y luego un análisis de componentes principales (ACP). Mediante el primero se analizan los efectos principales de genotipos (G) y ambientes (A); y con el segundo la IGA se analiza de forma multivariada a través de la representación simultánea de genotipos y ambientes en un gráfico bidimensional o *biplot* (Gauch y Zobel, 1997; Gauch, 2006). Los genotipos o ambientes que tienen coordenadas altas, positivas o negativas para el primer CP hacen un aporte mayor a la IGA que aquellos con valores cercanos a 0. El efecto de interacción entre un genotipo y un ambiente está dado por la proyección ortogonal del vector del genotipo sobre la dirección determinada por el vector del ambiente. Aquellos vectores de ambientes y genotipos que presentan la misma dirección tienen interacción positiva, es decir dichos ambientes son favorables para esos genotipos; por el contrario, los vectores ambientes y genotipos en direcciones opuestas indican interacción negativa, resultando ambientes desfavorables para esos genotipos (Gauch y Zobel, 1997; Gauch, 2006).

$$Y_{GA} = \mu + \alpha_G + \beta_A + \sum \lambda_N \tau_{GN} \delta_{AN} + \theta_{GA} \varepsilon_{GA}$$

Dónde:  $Y_{GA}$  es el rendimiento del genotipo G en el ambiente A,  $\mu$  es la media general,  $\alpha_G$  es la desviación media genotípica,  $\beta_A$  es la desviación media ambiental,  $\lambda_N$  es el autovalor del eje N del análisis de Componentes Principales,  $\tau_{GN}$  y  $\delta_{EN}$  son los vectores propios unitarios genotípicos y ambientales, respectivamente, asociados a  $\lambda_N$ ,  $\theta_{GA}$  representa la porción del término de interacción GA no explicado por el modelo multiplicativo y  $\varepsilon_{GA}$  es el término de error aleatorio.

Para el método AMMI II se realizó la prueba de Gollob (1968) para determinar la significancia de cada componente de este modelo, a través del paquete estadístico R.

## 5. Plasticidad fenotípica

Se calculó la plasticidad fenotípica del comportamiento de los 32 genotipos clonados creciendo en los diferentes ambientes, a través de la metodología propuesta por Scheiner y Goodnight (1984). Este método resulta ser de gran utilidad cuando se pretende medir la importancia relativa de los efectos genéticos, ambientales y de interacción genotipo x ambiente. Aplica un análisis de varianza a dos criterios de clasificación, que permite particionar la variación fenotípica total en efectos genotípicos independientes del ambiente, varianza genética ( $\sigma^2_G$ ), y en efectos plásticos dependientes del ambiente, varianza plástica, donde la heredabilidad de la plasticidad se calcula por analogía con la heredabilidad del carácter ( $pl^2 = \sigma^2_{PL} / \sigma^2_F$ ), como el cociente entre la varianza plástica ( $\sigma^2_{PL} = \sigma^2_A + \sigma^2_{GXA}$ ) y la varianza fenotípica total ( $\sigma^2_F = \sigma^2_A + \sigma^2_G + \sigma^2_{GXA} + \sigma^2_E$ ).

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \gamma_j + \delta_{ij} + \beta_k + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$  es el valor de Y en el i-ésimo ambiente del j-ésimo genotipo en el k-ésimo bloque,

$\mu$  representa la media poblacional,

$T_i$  el efecto del i-ésimo ambiente,

$\gamma_j$  el efecto del j-ésimo genotipo,

$\delta_{ij}$  el efecto de la interacción entre el i-ésimo ambiente y el j-ésimo genotipo,

$\beta_k$  el efecto del k-ésimo bloque,

$\epsilon_{ijk}$  es el término del error de la ijk-ésima observación.

Las repeticiones, los ambientes y los genotipos fueron utilizados como efectos aleatorios, a diferencia de lo que proponen otros autores (Scheiner y Lyman, 1989) que designan a los ambientes como efectos fijos, de este modo se siguió el modelo propuesto por Scheiner y Goodnight (1984) y se estimó la plasticidad fenotípica. En la Tabla 3.3 se muestra el cálculo de la Esperanza de los cuadrados medios a partir del análisis de la varianza para un diseño en parcelas divididas.



**Tabla 3.3:** Fuentes de variación, grados de libertad (GL) y esperanza de los cuadrados medios (E(CM)), para cada componente de variancia en el análisis entre ambientes y genotipos.

Fuente de variación	GL	CM	E(CM)
Bloques	r-1		
Ambientes	t-1	CM <sub>T</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A} + g.\sigma^2_{R^*A} + r.g.\sigma^2_A$
Bloque*Ambiente	(t-1)*(r-1)	CM <sub>R^*A</sub>	$\sigma^2_E + g.\sigma^2_{R^*A}$
Genotipos	g-1	CM <sub>G</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A} + r.t.\sigma^2_G$
Genotipo*Ambiente	(g-1)*(t-1)	CM <sub>G^*A</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A}$
Error	(r-1)*(ag-1)	CM <sub>E</sub>	$\sigma^2_E$

Dónde:

GL= grados de libertad,

E (CM)= esperanza de los cuadrados medios,

r= nº de bloques (repeticiones),

t= nº de ambientes,

g= nº de genotipos,

$\sigma^2_E$ = varianza del error,

$\sigma^2_{R^*A}; \sigma^2_{G^*A}$  = varianzas de las interacciones,

$\sigma^2_A$ = varianza del tratamiento (ambiente),

$\sigma^2_G$ = varianza entre genotipos

Cálculos de las varianzas a partir de los cuadrados medios según las siguientes ecuaciones:

$$\sigma^2_T = (CM_T - CM_{R^*A} - CM_{A^*G} + CM_E)/r^*g$$

$$\sigma^2_G = (CM_G - CM_{A^*G})/r.t$$

$$\sigma^2_{G^*A} = (CM_{A^*G} - CM_E)/r$$

$$\sigma^2_E = CM_E$$

## RESULTADOS

### 1. Efecto del halomorfismo en los genotipos: caracteres morfológicos y fisiológicos

De manera descriptiva en el Tabla 3.4 se observa, la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el efecto de ambiente, el efecto de genotipo y la interacción genotipo\*ambiente (IGA), para todos los caracteres evaluados en los 35 genotipos creciendo en los cuatro ambientes. Los resultados indicaron efecto de los ambientes ( $p < 0,05$ ) en los genotipos y diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre los genotipos para todos los caracteres. En cuanto a la IGA, fue significativa para 9 de los 15 caracteres: Alt2, Alt-R2, Alt3, Nmac3, TCD, AFE, PS2, PS3 y PMSA ( $p < 0,05$ ), el resto no presentó significancia a este nivel, por tal motivo los caracteres que no se presentaron interacción, no fueron graficados por ambiente. En Anexo se observan las tablas 3.I, 3.II y 3.III, las cuales detallan el comportamiento promedio de los genotipos y las diferencias significativas mínimas ( $p < 0,05$ ) para cada variable que no presentó IGA.

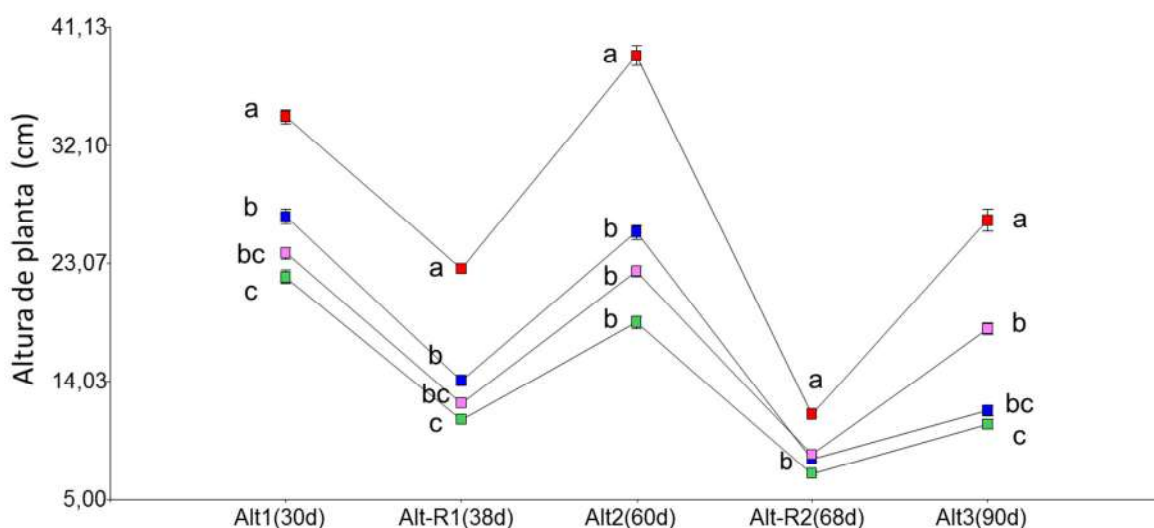
**Tabla 3.4:** Comportamiento promedio de los 35 genotipos y cuatro ambientes para los caracteres evaluados. Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo, máximo, valor p del efecto ambiente, del genotipo e interacción genotipo\*ambiente (IGA). Altura (Alt), Índice de verdor (SPAD), número de macollos (Nmac), tasa de crecimiento diario (TCD), área foliar específica (AFE), peso de materia seca (PS), peso de materia seca acumulada (PMSA).

Caracteres	Media	D.E.	CV	Mínimo	Máximo	Valor p		
						Ambiente	Genotipo	IGA
Alt-1 (cm)	26,69	7,10	26,61	7,10	50,30	0,0002	<0,0001	0,0603
Alt-R1 (cm)	15,03	5,19	34,54	5,00	34,20	<0,0001	<0,0001	0,0843
Alt-2 (cm)	26,36	9,59	36,38	4,90	60,50	0,0001	<0,0001	0,0007
Alt-R2 (cm)	8,74	2,56	29,29	4,00	18,00	0,0022	<0,0001	0,0171
Alt-3 (cm)	17,02	8,38	49,23	1,00	64,20	0,0075	<0,0001	0,0006
SPAD	49,88	4,25	8,51	35,80	64,90	0,3164	<0,0001	0,1422
Nmac1	85,56	34,29	40,08	3,00	196,00	0,0240	<0,0001	0,5210
Nmac2	80,91	34,61	42,77	1,00	212,00	0,0025	<0,0001	0,1829
Nmac3	56,15	32,45	57,79	2,00	156,00	0,0003	<0,0001	0,0263
TCD (mm/día)	0,58	0,48	82,75	-0,45	2,45	0,0020	<0,0001	0,0440
AFE (cm <sup>2</sup> /gPF)	20,05	8,66	43,19	1,10	96,86	0,0079	<0,0001	0,0231
PS1 (g)	3,72	2,29	61,62	0,03	26,50	<0,0001	<0,0001	0,1701
PS2 (g)	3,64	2,54	69,80	0,00	11,08	<0,0001	<0,0001	0,0041
PS3 (g)	2,05	1,78	86,76	0,09	7,80	0,0009	<0,0001	0,0399
PMSA (g)	9,24	5,96	64,51	0,03	30,68	<0,0001	<0,0001	0,0039

Nota: En las figuras los ambientes se representaran con los siguientes colores

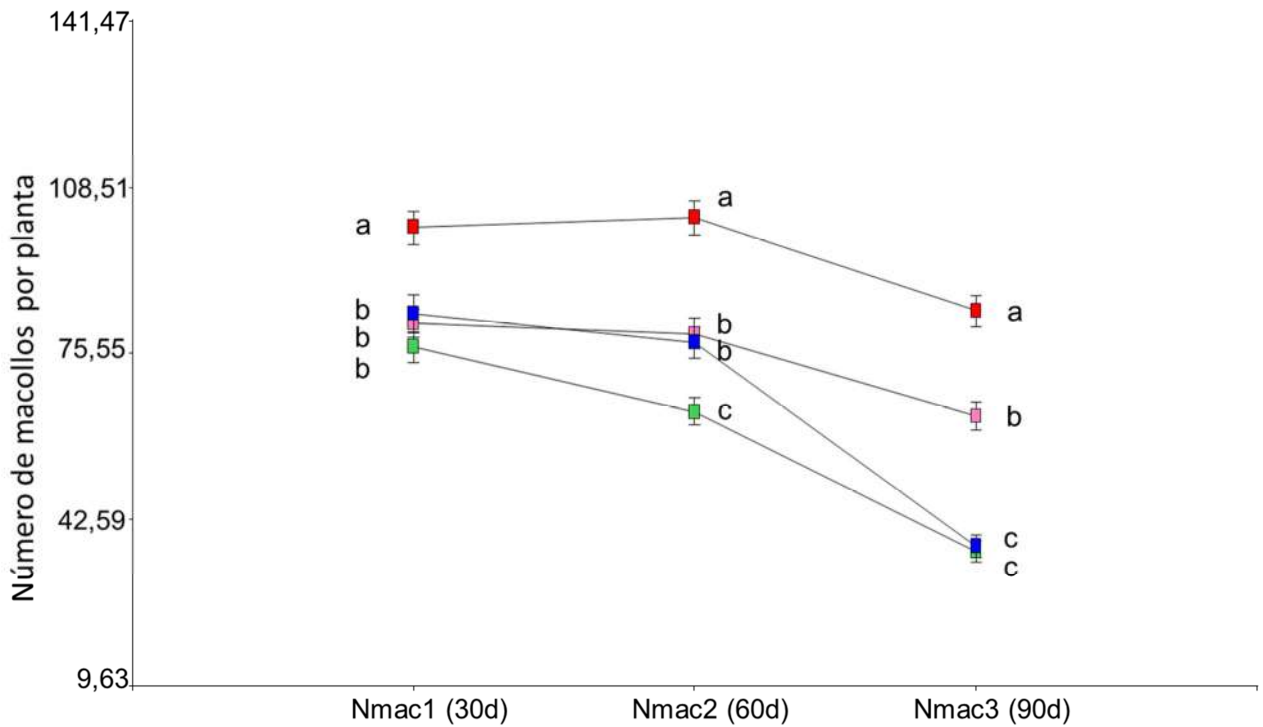
—■— Control      —■— Sódico      —■— Salino      —■— Salino-Sódico

La **altura de planta (Alt)** promedio (Figura 3.2) lograda por los genotipos en el ambiente control superó significativamente a la altura del resto de los ambientes en todas las fechas de evaluación. Para las tres primeras mediciones la altura en el ambiente sódico fue superior a la del salino y del salino-sódico. Este comportamiento se invirtió en las últimas dos fechas de medición entre los ambientes sódico y salino, en ambas fechas se observó IGA (Tabla 3.4). En relación a la altura de planta en genotipos (Anexo Tablas 3.II y 3.III), se observó una consistencia de algunos genotipos que demostraron para la mayoría de las mediciones valores superiores a la media: 2, 4, 5, 6, 9, 11, 15, 18, 21 y 33; mientras que los genotipos con menores valores fueron: 7, 8, 12, 13, 14, 16, 19, 23, 24, 29 y 35.



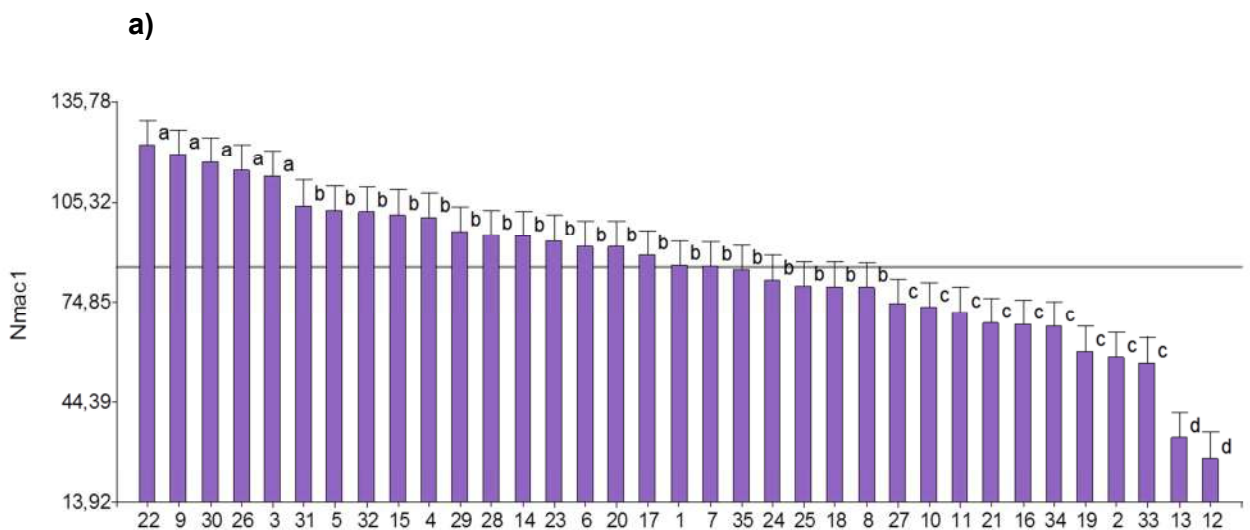
**Figura 3.2:** Altura promedio (Alt) en cm por planta y error estándar (E.E en barras) para todos los genotipos en los cuatro ambientes para cinco fechas de medición en días (d) desde aplicados los tratamientos. *Letras distintas para la misma fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

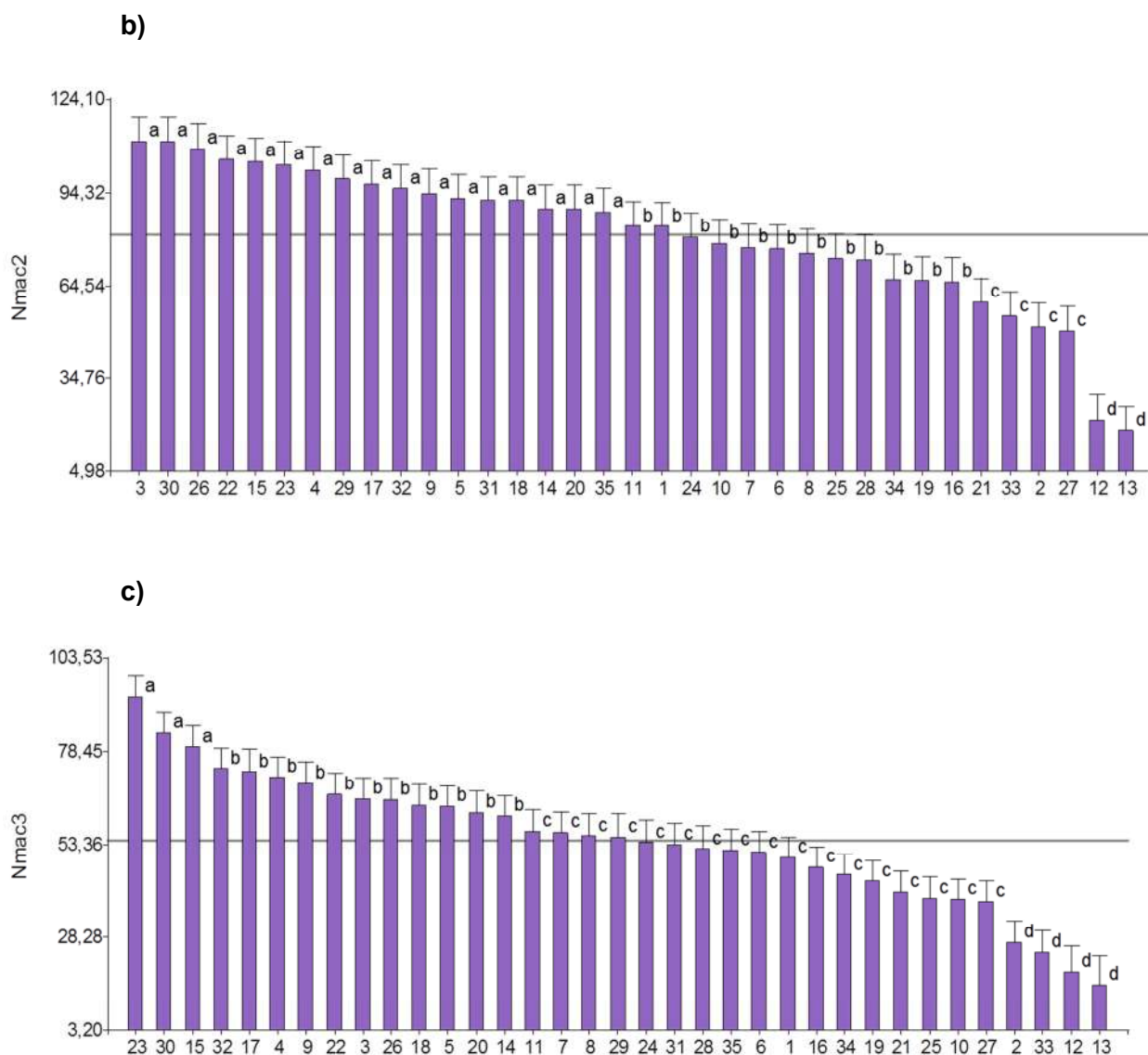
El **número de macollos (Nmac)** promedio de todos los genotipos (Figura 3.3) fue significativamente mayor en el ambiente control para las tres fechas de medición. En halomorfismo el número de macollos varió de acuerdo a la fecha considerada. Por ej, a los 30 días no se detectaron diferencias significativas, sin embargo, a los 60 días fue superior en el salino-sódico y a los 90 días en el salino. El ambiente salino-sódico fue el que más afectó el crecimiento de los genotipos en todas las fechas.



**Figura 3.3:** Número de macollos promedio por planta y error estándar (E.E en barras) para todos los genotipos en los cuatro ambientes. *Letras distintas para la misma fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

Para el número de macollos por genotipos, se destacaron en las tres fechas de medición los genotipos 3, 4, 5, 9, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 26, 30 y 32 presentando valores por encima de la media consistentemente. Mientras que los genotipos 2, 12, 13, 19, 21 y 33 fueron los que presentaron menores valores (Figura 3.4).



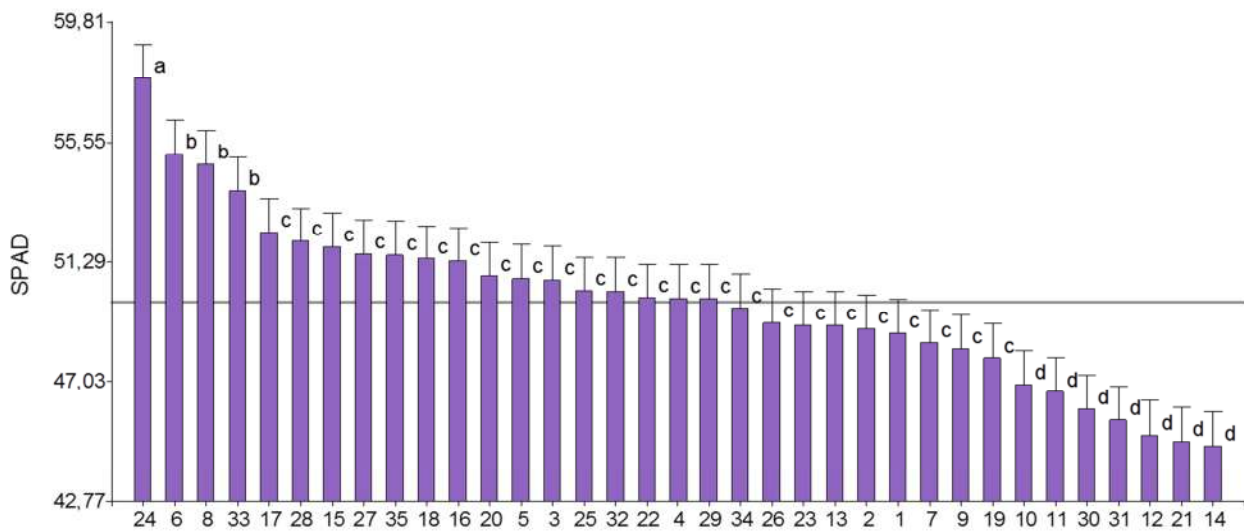


**Figura 3.4:** Número de macollos (Nmac) promedio y error estándar (E.E. en barras) para los 35 genotipos en las tres fechas de medición (a, b, c), la línea corresponde a la media. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

Para la tercera fecha de medición se observó IGA (Anexo Tabla 3.III), los genotipos que presentaron buena producción en todos los ambientes fueron 3, 5, 9, 14, 15, 17, 22, 23, 30 y 32, mientras que los que produjeron por debajo de la media fueron 2, 12, 13, 25 y 33.

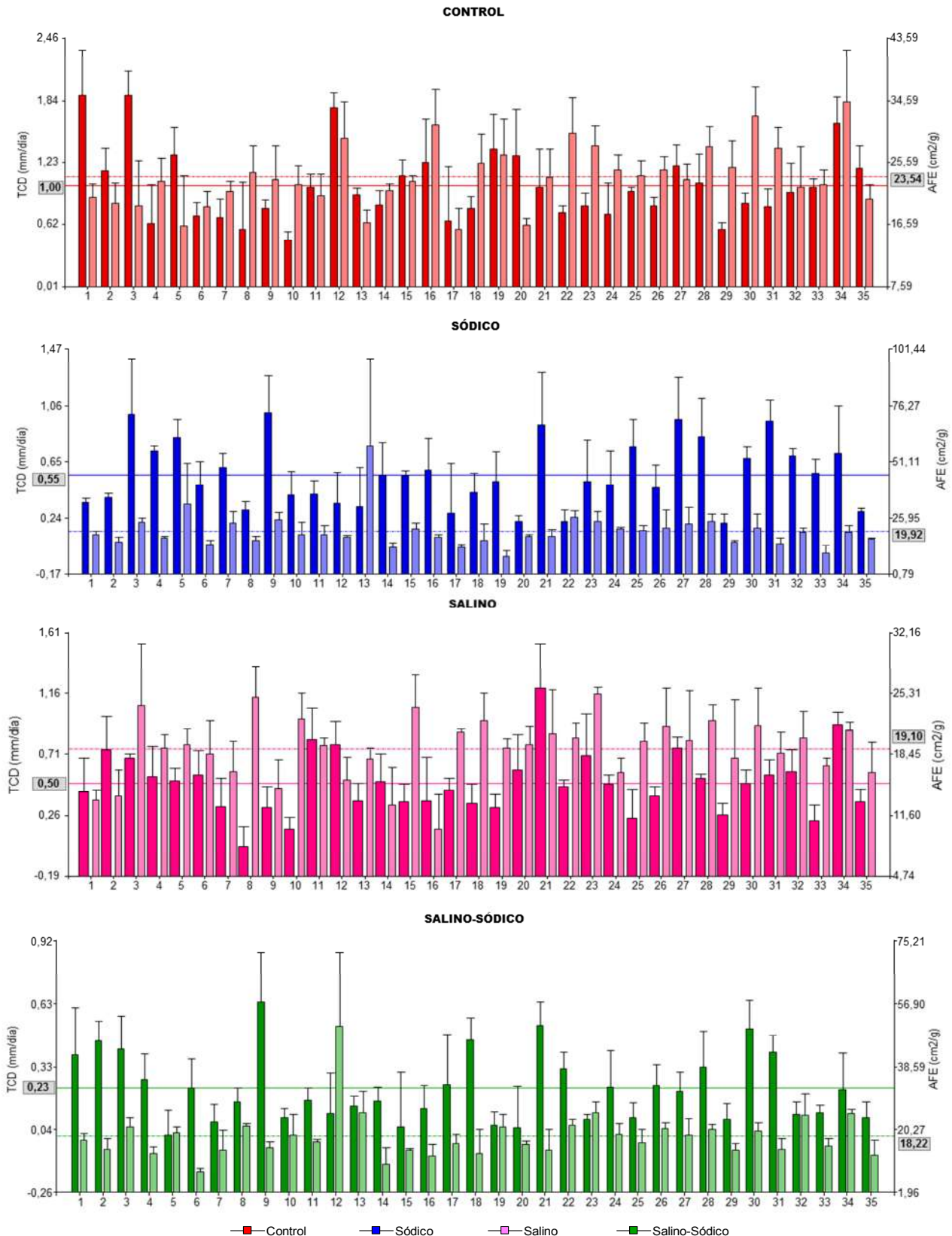
El **índice de verdor (SPAD)** no mostró diferencias significativas entre ambientes, pero existieron diferencias entre genotipos indistintamente del ambiente (Tabla 3.4), detectándose genotipos con mayor índice (6, 8, 24, 33) y con menor índice (10, 11, 12, 14,

21, 30, 31). En la Figura 3.5 se muestra el comportamiento promedio de los genotipos en todos los ambientes.



**Figura 3.5:** Índice de verdor promedio (SPAD) en unidades spad y error estándar (E.E en barras) para los 35 genotipos evaluados, la línea corresponde a la media. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

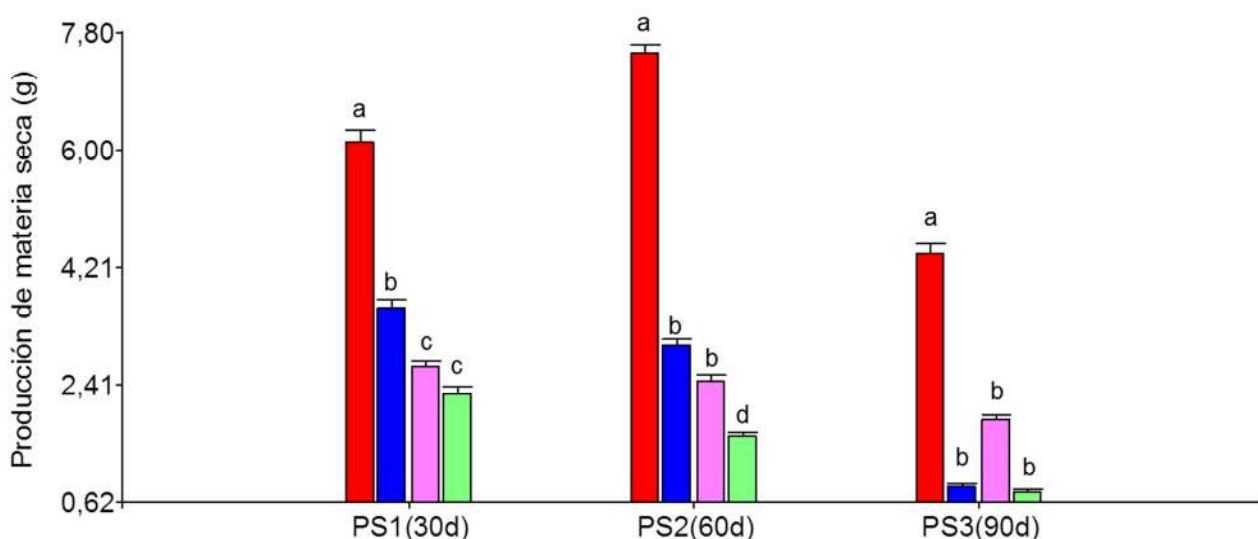
En cuanto a la **tasa de crecimiento diario (TCD)** y el **área foliar específica (AFE)** (Figura 3.6) **por genotipo**, en el ambiente control los genotipos lograron los mayores valores (1mm/día y 23,54cm<sup>2</sup>/g) y en el salino-sódico los valores más bajos, con una disminución del 77% de la TCD y del 22,5% del AFE. En los ambientes sódico y salino la reducción del crecimiento fue intermedia. Si bien se evidenció IGA, algunos genotipos se destacaron por ser superiores a la media en todos los ambientes halomórficos (3, 4, 21, 27, 28, 31 y 34).



**Figura 3.6:** Tasa de crecimiento diaria (TCD) en mm/día y Área foliar específica (AFE) en cm<sup>2</sup>/g, para los 35 genotipos evaluados en los cuatro ambientes y error estándar (E.E en barras). Las barras color oscuro es la TCD y las más clara es AFE, la línea llena corresponde a la media de la TCD y la punteada a la del AFE. El valor recuadrado es la media de cada variable en ese ambiente.



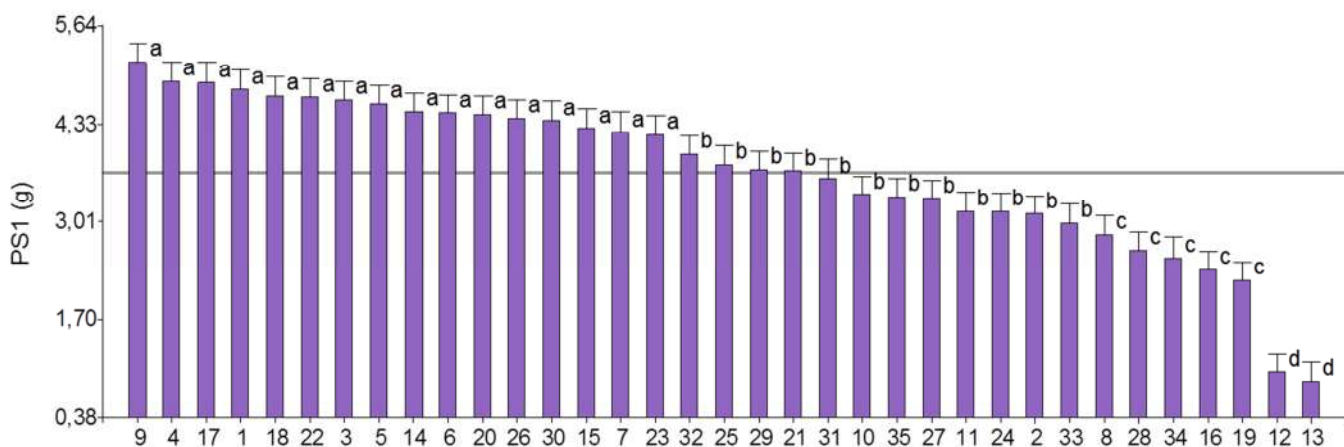
La **producción de materia seca promedio para cada corte por ambiente (PS)**, se observa en la Figura 3.7. En el ambiente control los genotipos siempre crecieron más y en el salino-sódico menos. En tanto para los ambientes sódico y salino, el crecimiento y la producción de materia seca varió de acuerdo a la fecha de medición. Por ejemplo, en el primer corte se observó que en el control los genotipos produjeron 1,6 veces más respecto del sódico. Similarmente tuvieron una producción 1,4 veces significativamente superior en el sódico respecto al salino, y 1,7 del sódico respecto al salino-sódico (Tabla Anexo 3.I.). La producción de materia seca del segundo y del tercer corte presentaron IGA significativa (Anexo Tabla 3.III).



**Figura 3.7:** Producción de materia seca (PS) en gramos y error estándar (E.E en barras) para cada fecha en los cuatro ambientes. *Letras distintas para la misma fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

Al considerar la **producción de materia seca por genotipo en cada ambiente para las tres fechas de corte**, se evidenció la mayor disminución de crecimiento en halomorfismo y en particular en condiciones salino-sódicas (Anexo Tablas 3.II y 3.III) acentuándose en el tercer corte respecto del primero. La **producción de materia seca en el primer corte (PS1)** no mostró IGA, y por tal motivo se graficó el promedio de todos los ambientes (Figura 3.8). Se distinguen dos grupos de genotipos, uno con mayor producción de materia seca (1, 3, 4, 5, 9, 17, 18, 22) y otro grupo de menor producción (8, 12, 13, 16, 19, 28, 34).

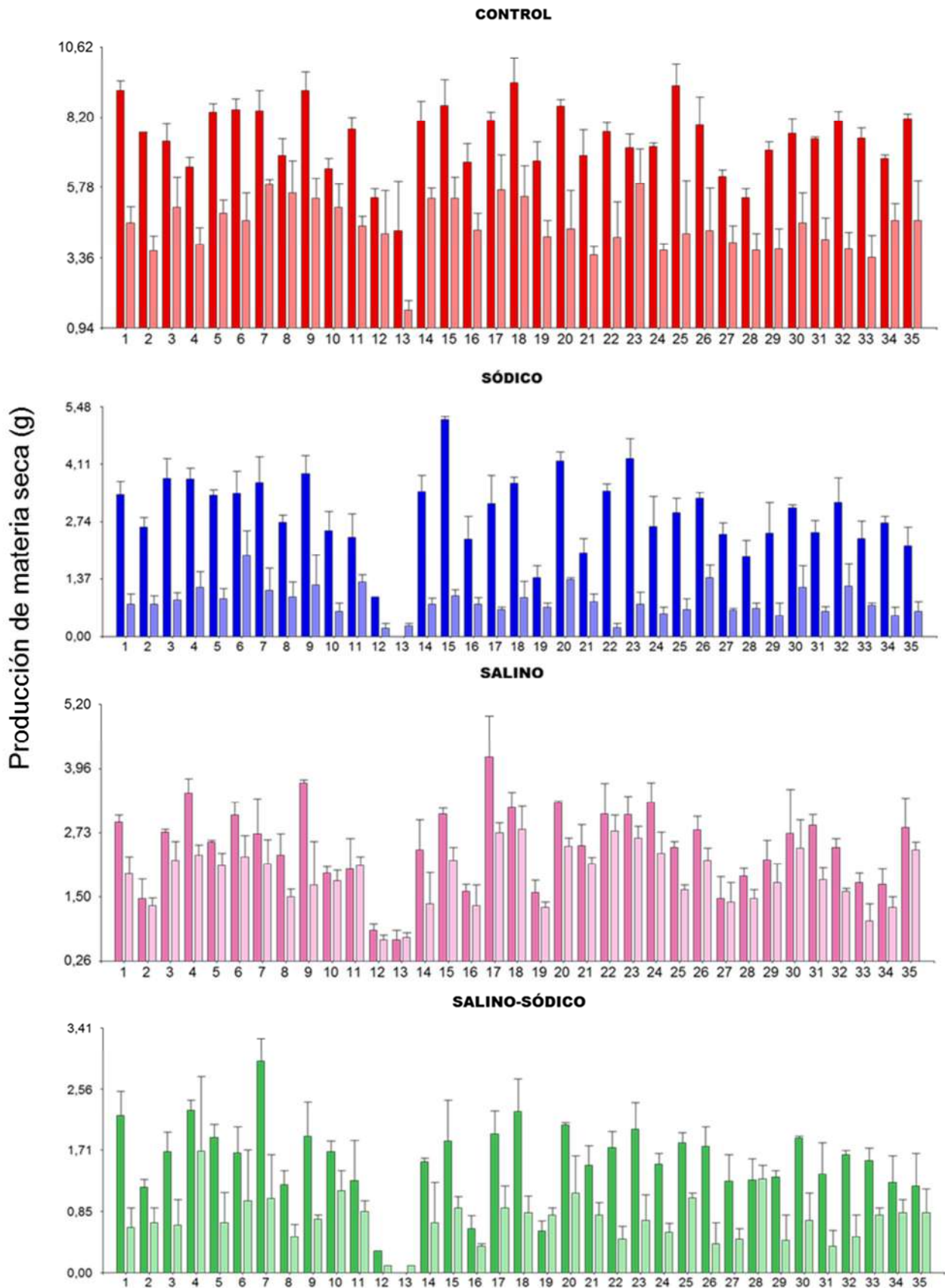




**Figura 3.8:** Producción de materia seca en gramos al primer corte (PS1:30d) promedio para los 35 genotipos evaluados y error estándar (E.E. en barras), la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Figura 3.9 se graficó la **producción de materia seca del segundo (PS2) y del tercer corte (PS3)** para los 35 genotipos en cada ambiente. Para ambas fechas el peso seco fue variable y dependiente del ambiente (Anexo Tabla 3.III). En el PS2 se observó la mayor interacción genético ambiental y la mayor diferenciación entre genotipos, detectándose aquellos con menor producción (12, 13, 19, 33) y aquellos que crecieron más (1, 4, 5, 7, 9, 15, 17, 18). En el PS3 todos los genotipos redujeron el crecimiento en los ambientes sódico y salino-sódico (Figura 3.9, Anexo Tabla 3.III).

La **producción de materia seca acumulada por genotipo en cada ambiente (PMSA)** presentó interacción genotipo ambiente. Sin embargo, algunos genotipos demostraron valores productivos por encima de la media en todos los ambientes: 1, 3, 5, 6, 7, 9, 15, 17, 18, 23, 26, 30 y otros por debajo de la media en todos los ambientes: 8, 12, 13, 16, 19, 27, 28, 29, 33, 34 y 35 (Tabla 3.5).



**Figura 3.9:** Producción de materia seca (g) segundo corte (PS2: color de barra más oscura) y tercer corte (PS3: color de barra más clara), para cada genotipo en cada uno de los ambientes y error estándar (E.E. en barras).

**Tabla 3.5:** Producción de materia seca acumulada (PMSA) promedio  $\pm$  error estándar ( $\pm$  E.E) por genotipo en cada ambiente. Comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Genotipo	PMSA (g)			
	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
1	21,02 $\pm$ 1,34	9,25 $\pm$ 0,82	8,54 $\pm$ 0,76	5,88 $\pm$ 0,79
2	17,31 $\pm$ 1,34	6,57 $\pm$ 0,82	4,40 $\pm$ 0,76	3,29 $\pm$ 0,79
3	20,28 $\pm$ 1,34	8,88 $\pm$ 0,82	8,34 $\pm$ 0,76	5,49 $\pm$ 0,79
4	17,90 $\pm$ 1,34	9,33 $\pm$ 0,82	9,83 $\pm$ 0,76	7,57 $\pm$ 0,79
5	20,81 $\pm$ 1,34	8,77 $\pm$ 0,82	7,99 $\pm$ 0,76	5,58 $\pm$ 0,79
6	20,16 $\pm$ 1,34	9,87 $\pm$ 0,82	8,94 $\pm$ 0,76	5,34 $\pm$ 0,79
7	19,98 $\pm$ 1,34	8,34 $\pm$ 0,82	7,31 $\pm$ 0,76	7,24 $\pm$ 0,79
8	17,28 $\pm$ 1,34	6,79 $\pm$ 0,82	5,97 $\pm$ 0,76	2,69 $\pm$ 0,79
9	22,75 $\pm$ 1,34	10,33 $\pm$ 0,82	8,09 $\pm$ 0,76	5,67 $\pm$ 0,79
10	17,47 $\pm$ 1,34	6,33 $\pm$ 0,82	5,94 $\pm$ 0,76	4,99 $\pm$ 0,79
11	17,79 $\pm$ 1,34	6,54 $\pm$ 0,82	6,59 $\pm$ 0,76	3,62 $\pm$ 0,79
12	11,38 $\pm$ 1,34	1,27 $\pm$ 0,82	2,01 $\pm$ 0,76	0,34 $\pm$ 0,79
13	8,33 $\pm$ 1,34	0,32 $\pm$ 0,82	1,96 $\pm$ 0,76	0,31 $\pm$ 0,79
14	21,06 $\pm$ 1,34	8,47 $\pm$ 0,82	6,87 $\pm$ 0,76	5,31 $\pm$ 0,79
15	21,41 $\pm$ 1,34	10,62 $\pm$ 0,82	8,02 $\pm$ 0,76	5,21 $\pm$ 0,79
16	14,73 $\pm$ 1,34	5,96 $\pm$ 0,82	5,04 $\pm$ 0,76	1,74 $\pm$ 0,79
17	19,09 $\pm$ 1,34	8,34 $\pm$ 0,82	10,18 $\pm$ 0,76	6,16 $\pm$ 0,79
18	23,22 $\pm$ 1,34	8,43 $\pm$ 0,82	9,58 $\pm$ 0,76	6,15 $\pm$ 0,79
19	14,84 $\pm$ 1,34	4,03 $\pm$ 0,82	4,81 $\pm$ 0,76	2,38 $\pm$ 0,79
20	20,15 $\pm$ 1,34	9,66 $\pm$ 0,82	8,94 $\pm$ 0,76	6,03 $\pm$ 0,79
21	17,08 $\pm$ 1,34	5,50 $\pm$ 0,82	7,72 $\pm$ 0,76	4,56 $\pm$ 0,79
22	18,80 $\pm$ 1,34	8,41 $\pm$ 0,82	9,49 $\pm$ 0,76	5,44 $\pm$ 0,79
23	19,62 $\pm$ 1,34	9,47 $\pm$ 0,82	8,78 $\pm$ 0,76	5,4 $\pm$ 0,79
24	15,93 $\pm$ 1,34	7,41 $\pm$ 0,82	8,32 $\pm$ 0,76	4,31 $\pm$ 0,79
25	20,34 $\pm$ 1,34	6,61 $\pm$ 0,82	6,72 $\pm$ 0,76	5,25 $\pm$ 0,79
26	19,20 $\pm$ 1,34	8,63 $\pm$ 0,82	8,32 $\pm$ 0,76	4,93 $\pm$ 0,79
27	15,53 $\pm$ 1,34	6,91 $\pm$ 0,82	4,94 $\pm$ 0,76	3,67 $\pm$ 0,79
28	13,62 $\pm$ 1,34	5,10 $\pm$ 0,82	5,19 $\pm$ 0,76	3,72 $\pm$ 0,79
29	17,41 $\pm$ 1,34	6,13 $\pm$ 0,82	6,6 $\pm$ 0,76	3,82 $\pm$ 0,79
30	18,86 $\pm$ 1,34	8,50 $\pm$ 0,82	8,89 $\pm$ 0,76	5,44 $\pm$ 0,79
31	17,25 $\pm$ 1,34	6,88 $\pm$ 0,82	7,44 $\pm$ 0,76	3,78 $\pm$ 0,79
32	19,39 $\pm$ 1,34	7,89 $\pm$ 0,82	6,52 $\pm$ 0,76	4,18 $\pm$ 0,79
33	15,44 $\pm$ 1,34	5,78 $\pm$ 0,82	5,03 $\pm$ 0,76	4,60 $\pm$ 0,79
34	16,07 $\pm$ 1,34	5,78 $\pm$ 0,82	4,71 $\pm$ 0,76	2,88 $\pm$ 0,79
35	17,88 $\pm$ 1,34	6,33 $\pm$ 0,82	8,03 $\pm$ 0,76	3,94 $\pm$ 0,79
<b>Media</b>	18	7,27	7,03	4,48
<b>LSD</b>	3,659	2,107	2,136	2,182

### Acumulación de iones: Calcio (Ca<sup>+</sup>), Magnesio (Mg<sup>+</sup>), Potasio (K<sup>+</sup>), Sodio (Na<sup>+</sup>) y relación Potasio/Sodio (K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>)

En la Tabla 3.6 se observa de manera descriptiva la media, el desvío estándar (D.E.), valores mínimo (Mín) y máximo (Máx), el valor p del efecto ambiente, del efecto genotipo y de la interacción genotipo por ambiente (IGA), para el contenido de todos los iones (nmoles/mg peso seco) y la K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, para los 35 genotipos en los cuatro ambientes. A excepción del Ca<sup>+</sup>, para todos los iones hubo efecto ambiente y efecto de genotipo, mientras que para la interacción entre ambos factores (IGA), todos presentaron interacción significativa menos el K<sup>+</sup> y el Ca<sup>+</sup>.

**Tabla 3.6** Comportamiento promedio de los 35 genotipos y cuatro ambientes para el contenido de iones evaluados. Calcio (Ca<sup>+</sup>), Magnesio (Mg<sup>+</sup>), Potasio (K<sup>+</sup>) y Sodio (Na<sup>+</sup>) y la relación Potasio/Sodio (K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>). Media, desvío estándar (D.E.), mínimo (Mín), máximo (Máx), valor p del efecto ambiente, genotipo y la interacción genotipo\*ambiente (IGA).

ION (nmoles/mgPS)	Media	D.E.	Mín	Máx	Valor p		
					Ambiente	Genotipo	IGA
Ca <sup>+</sup>	1,54	1,07	0,00	7,17	0,2667	0,2305	0,2732
Mg <sup>+</sup>	3,98	1,93	0,00	22,30	0,0200	<0,0001	0,0309
K <sup>+</sup>	14,85	7,07	1,19	41,88	0,0004	<0,0001	0,5370
Na <sup>+</sup>	25,59	12,68	0,92	100,06	0,0013	0,0002	<0,0001
K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>	0,89	0,91	0,06	4,82	0,0001	0,0002	0,0017

La Tabla 3.7 se presenta la media de los 35 genotipos de agropiro alargado para el contenido de iones evaluados en cada ambiente. En términos generales existieron diferencias significativas para el contenido de todos los iones a excepción del Ca<sup>+</sup>.

**Tabla 3.7:** Medias aritméticas ± error estándar (± E.E.) del contenido de iones (nmoles/mg peso seco): Calcio (Ca<sup>+</sup>), Magnesio (Mg<sup>+</sup>), Potasio (K<sup>+</sup>) y Sodio (Na<sup>+</sup>) y la relación Potasio/Sodio (K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>), evaluados para cada ambiente. Comparación de medias a través del test LSD de Fisher (p<0,05).

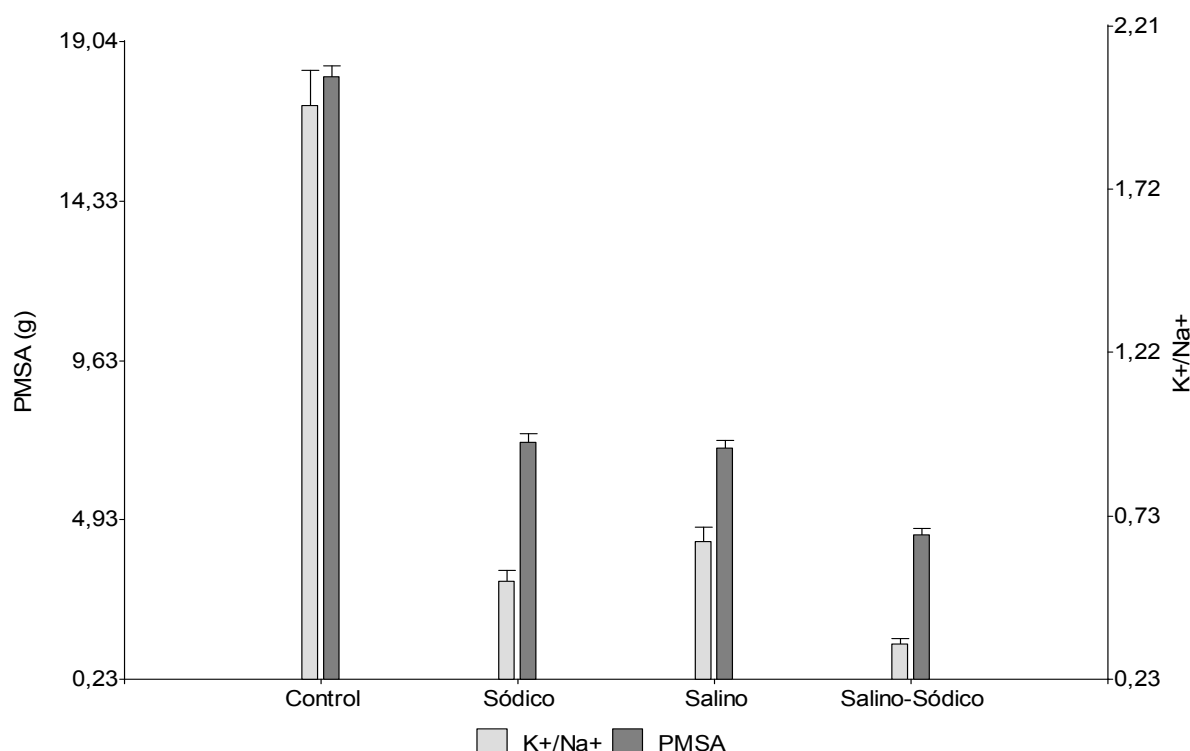
Tratamiento	Mg <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+</sup>	K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>
Control	5,77±0,24	13,51±1,43	22,07±1,04	1,68±0,18	2,01±0,10
Sódico	3,92±0,24	27,73±1,44	13,33±1,05	1,63±0,19	0,54±0,10
Salino	3,26±0,24	26,05±1,43	13,49±1,04	1,94±0,18	0,66±0,10
Salino-Sódico	2,95±0,24	35,11±1,43	10,50±1,04	0,91±0,18	0,34±0,10
Media	3,98±0,24	25,60±1,43	14,85±1,04	1,54±0,18	0,89±0,10
LSD	0,928	6,052	4,567	1,175	0,241

Para el  $Mg^+$  la disminución en los ambientes halomórficos respecto del ambiente control, fue de 1,47 en el sódico, 1,76 en el salino y 1,96 en el salino-sódico (Anexo Tabla 3.IV).

La disminución del  $K^+$  en los ambientes con sales respecto del control fue entre 1,63 (salino) y 2,1 (salino-sódico), mientras que el incremento de  $Na^+$  fue de 1,92 (salino) y 2,6 (salino-sódico). La relación  $K^+/Na^+$  disminuyó fuertemente en el ambiente salino-sódico (5,9 veces), mientras que en el ambiente sódico (3,7) y en el salino (3) la disminución fue menor.

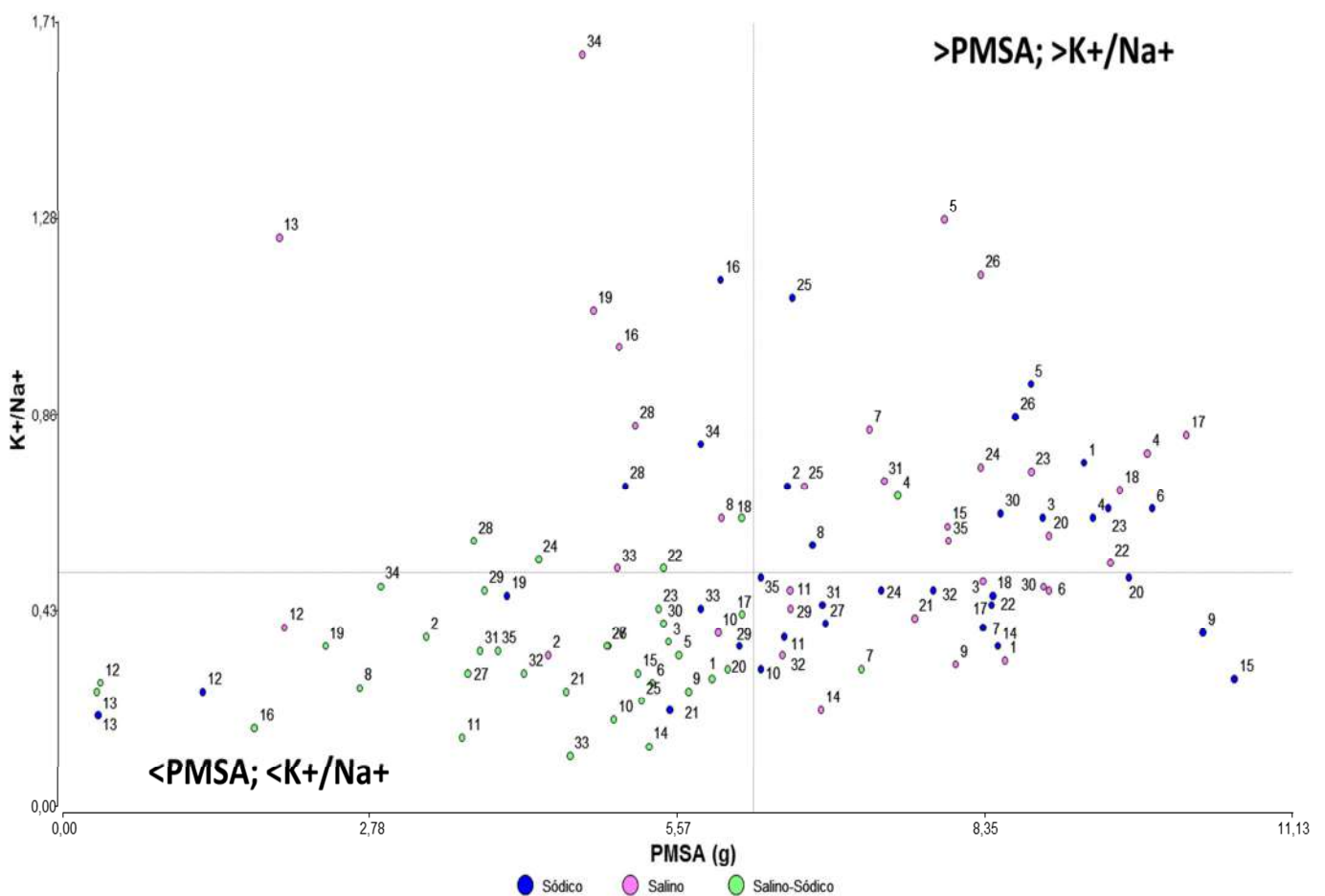
Los genotipos que presentaron mayor concentración de  $K^+$ , menor acumulación de  $Na^+$  y mayor relación  $K^+/Na^+$ , fueron: 3, 5, 6, 7, 8, 16, 17, 18, 19, 23, 24, 26, 28, 30 y 34; mientras que los que presentaron comportamiento contrario fueron: 9, 10, 12, 13, 14, 15, 21, 22, 27, 29, 32 y 33 (Anexo Tabla 3.IV)

Por otro lado, al estudiar el comportamiento productivo (PMSA) vs la relación  $K^+/Na^+$  (Figura 3.10) se observó que en los ambientes halomórficos la  $K^+/Na^+$  se redujo de forma más marcada en comparación a la PMSA. En el ambiente salino-sódico se produjo la menor relación y en el control la mayor relación, mientras que en los otros dos ambientes la relación fue intermedia (Anexo Tabla 3.V)



**Figura 3.10:** Relación  $K^+/Na^+$  y producción de materia seca acumulada (PMSA) para los cuatro ambientes y error estándar (E.E. en barras).

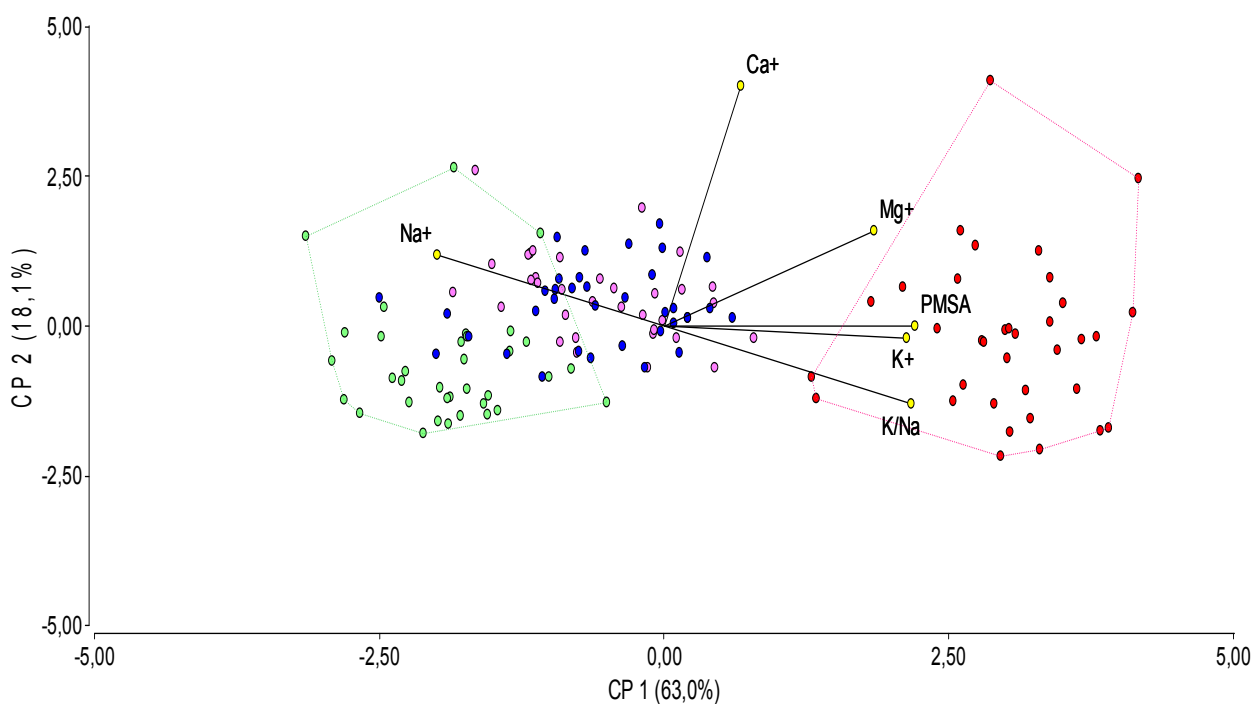
En cuanto al desempeño de los genotipos en todos los ambientes, se observa en la Figura 3.11, la relación  $K^+/Na^+$  en función de la producción de materia seca acumulada (PMSA), se obtuvieron cuatro cuadrantes. En el cuadrante derecho superior ( $>PMSA$ ;  $>K^+/Na^+$ ) se ubicaron los genotipos que mejor relación tuvieron (4, 5, 8, 18, 23, 25 y 26) en salino y sódico; mientras que en el cuadrante inferior izquierdo se encuentran los genotipos de peor desempeño, coincidente con el ambiente salino-sódico (12, 13, 19, 21, 29, 33).



**Figura 3.11:** Relación  $K^+/Na^+$  y producción de materia seca acumulada (PMSA) para los 35 genotipos en los tres ambientes halomórficos. Cuadrante superior derecho: mayor PMSA y mayor  $K^+/Na^+$  ( $>PMSA$ ;  $>K^+/Na^+$ ); Cuadrante inferior izquierdo: menor PMSA y menor  $K^+/Na^+$  ( $<PMSA$ ;  $<K^+/Na^+$ ).

En la Figura 3.12 se observa el biplot surgido de aplicar análisis de componentes principales considerando los iones y la producción de materia seca acumulada de todos los genotipos en los cuatro ambientes. El 81,1% del total de la variabilidad es explicado por las

dos componentes; la CP1 explica el 63% a través de las variables  $K^+/Na^+$ ,  $K^+$  y PMSA; y la CP2 explica el 18,1% a través de la variable  $Ca^+$  (Anexo, Tabla 3.VI). Se distinguió claramente la agrupación de los genotipos en el ambiente control (hacia la derecha), y en el ambiente salino-sódico hacia la izquierda; mientras que en el plano intermedio se ubicaron los genotipos afectados por los ambientes sódico y salino.



**Figura 3.12** Análisis de componentes principales para los tres ambientes con sales y los 35 genotipos en cada uno de los ambientes considerando iones Sodio ( $Na^+$ ), Calcio ( $Ca^+$ ), Magnesio ( $Mg^+$ ), Potasio ( $K^+$ ), relación Potasio/Sodio ( $K^+/Na^+$ ) y peso de materia seca acumulada (PMSA).

## 2. Efecto del halomorfismo en los genotipos: estimación de la correlación fenotípica entre caracteres por ambiente

Las correlaciones fenotípicas se calcularon por ambiente para todas las variables (Anexo, Tabla 3.VII). A continuación, se detallan las variables más relevantes para cada tratamiento, debido a su valor y a su significancia.

**Producción de Materia seca Acumulada (PMSA):** Esta variable presentó correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) con las diferentes alturas para todos los ambientes, destacándose en el ambiente salino-sódico ( $r = 0,38$  a  $0,26$ ) con valores más elevados que para el resto de los ambientes. El PMSA presentó correlación elevada ( $r = 0,33$  a  $0,92$ ) y significativa ( $p < 0,05$ ) con las tres fechas de medición del número de macollo (Nmac1, Nmac2 y Nmac3), con valores más altos en los ambientes sódico y salino. El PMSA correlacionó significativamente ( $p < 0,05$ ), con las tres fechas de corte (PS1, PS2 y PS3) en todos los ambientes a ( $r = 0,46$  a  $0,92$ ) detectándose para el PS1 los mayores valores de correlación ( $r = 0,83$  a  $0,92$ ) indistintamente del ambiente; en el tratamiento salino se observaron los mayores valores de  $r$  ( $0,85$  a  $0,92$ ).

**Tasa de crecimiento diario (TCD):** La TCD en mm/día mostró correlación con todas las alturas en el ambiente control ( $r = 0,23$  a  $0,35$ ;  $p < 0,05$ ). En el ambiente salino solo correlacionó con la altura inicial previa al primero corte ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ).

**Índice de verdor (SPAD):** esta variable mostró correlación negativa ( $r = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ) con la TCD en el ambiente salino y también ( $-0,31$ ;  $p < 0,05$ ) con la altura de rebrote luego del primero corte en el ambiente control. En el ambiente salino-sódico correlacionó con la altura de rebrote del segundo corte ( $r = 0,23$ ;  $p < 0,05$ ) y con la altura previa al tercer corte ( $r = 0,26$ ,  $p < 0,05$ ).

**Área Foliar Específica (AFE):** Esta variable correlacionó de manera positiva ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ) con la  $K^+/Na^+$  en el ambiente sódico. En el ambiente salino, se observó correlación positiva y significativa ( $p < 0,05$ ) para el Nmac2 ( $r = 0,24$ ) y Nmac3 ( $r = 0,21$ ) y para el PS3 ( $r = 0,21$ ).



### **3. Efecto del halomorfismo en los genotipos: diversos análisis multivariados**

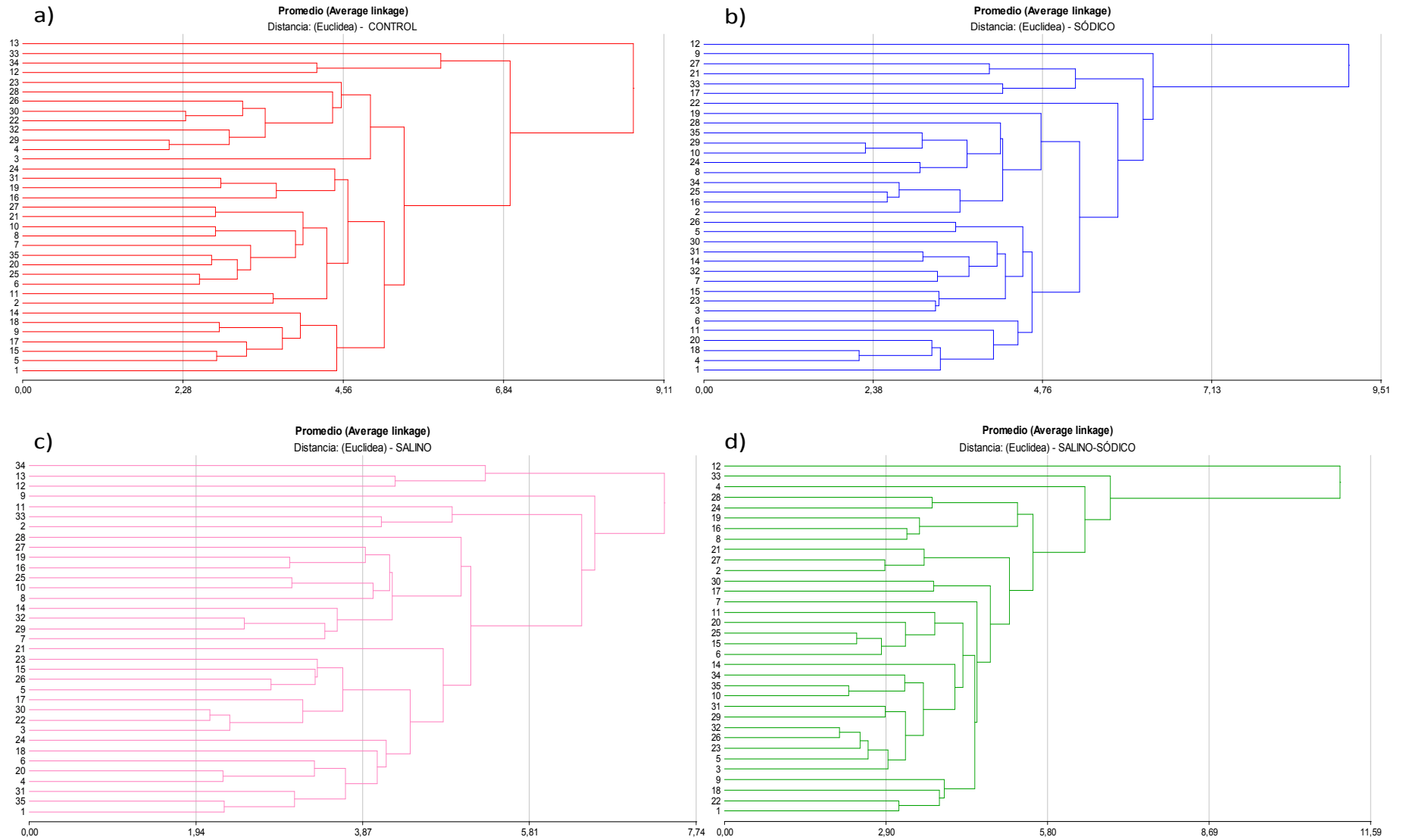
Para los análisis multiambientales realizados se consideraron las 16 variables analizadas (Alt-1; Alt-R1, Alt-2; Alt-R2, Alt-3; Nmac1, Nmac2; Nmac3, SPAD, PS1, PS2, PS3, PMSA, TCD y AFE) se muestran en la Tabla 3.2.

#### **3.1 Componentes Principales**

Al realizar el análisis de componentes principales por ambiente (Anexo Tabla 3.VIII), se observó que ambas componentes explicaron el 56% de la variabilidad en el control y sódico, en el salino el 60% y en el salino-sódico el 61% del total de la variabilidad presente. La CP1 explicó una variabilidad que osciló entre el 31% en el control y 41% en el salino-sódico. Las variables que más aportaron a la CP1 en todos los ambientes fueron el número de macollos en las tres fechas y la producción de materia seca. Mientras que la CP2, explicó una variabilidad del 21% al 22% a través de la altura de planta.

#### **3.2 Análisis de Conglomerados**

Se realizó el análisis de conglomerados jerarquizado por ambiente mediante el método de encadenamiento promedio y la distancia euclídea (Figura 3.13). Los resultados indicaron que al 50% de la distancia, se formaron distinta cantidad de subgrupos de genotipos con alta similitud. En términos generales, se destacan el ambiente salino por discriminar mayor cantidad de subgrupos (18) y el salino-sódico por la menor cantidad (4). La correlación cofenética para este análisis osciló entre 0,71 (salino) y 0,88 (salino-sódico).



**Figura 3.13:** Análisis de conglomerados para cada ambiente, contemplando las 16 variables en estudio: a) Control; b) Sódico; c) Salino; d) Salino-Sódico.

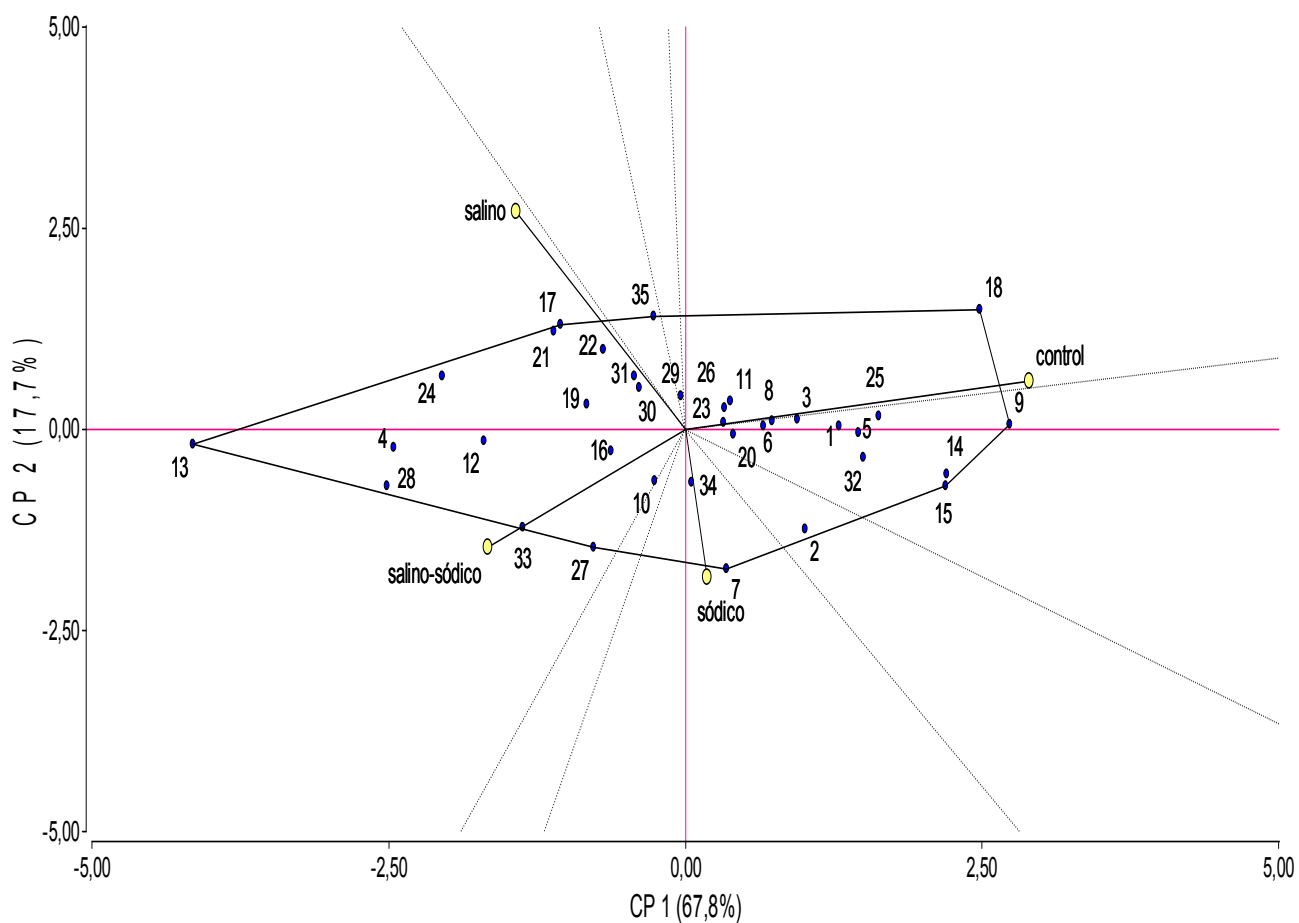
#### **4. Análisis de la interacción genotipo ambiente para la producción de materia seca acumulada (PMSA) en los cuatro ambientes. Modelos AMMI.**

Con el objetivo de clasificar los genotipos en estables e inestables a partir de la PMSA y su interacción con el ambiente, se aplicaron los modelos AMMI (efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos).

##### **4.1 AMMI II**

Las dos primeras componentes principales del modelo AMMI explicaron un 87% de la variabilidad de los datos (Figura 3.14). Los ambientes sódico y salino-sódico, estuvieron correlacionados y se asociaron con valores negativos a la CP2. Mientras que el ambiente salino no se correlacionó con ningún ambiente y se asoció al ambiente salino-sódico por presentar valores negativos respecto de la CP1. El ambiente control se diferenció del resto de los ambientes halomórficos y explicó la mayor variación de los datos a nivel de la CP1, mientras que el ambiente salino fue el que más explicó nivel de la CP2.

Se detectaron grupos de genotipos con diferente adaptación por ambiente (Foto 3.3); por ejemplo los genotipos con mayor adaptación al ambiente control fueron: 9, 14, 15 y 18 los de mayor adaptación a ambiente salino fueron: 17, 21, 22, y 35; en el ambiente sódico se destacaron los genotipos 7 y 34 y en el salino-sódico los genotipos 27 y 33. Por otro lado, se identificaron los genotipos más estables (3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 30, 31, 34) situados cerca del origen de las coordenadas. La prueba de Gollob (1968) permitió determinar el nivel de significancia ( $p=1,42 \cdot 10^{-5}$ ) de la componente principal 1 (CP1: 87%).



**Figura 3.14:** Biplot AMMI II, de los efectos principales e interacción genotipo por ambiente (IGA) para los 35 genotipos en los cuatro ambientes.

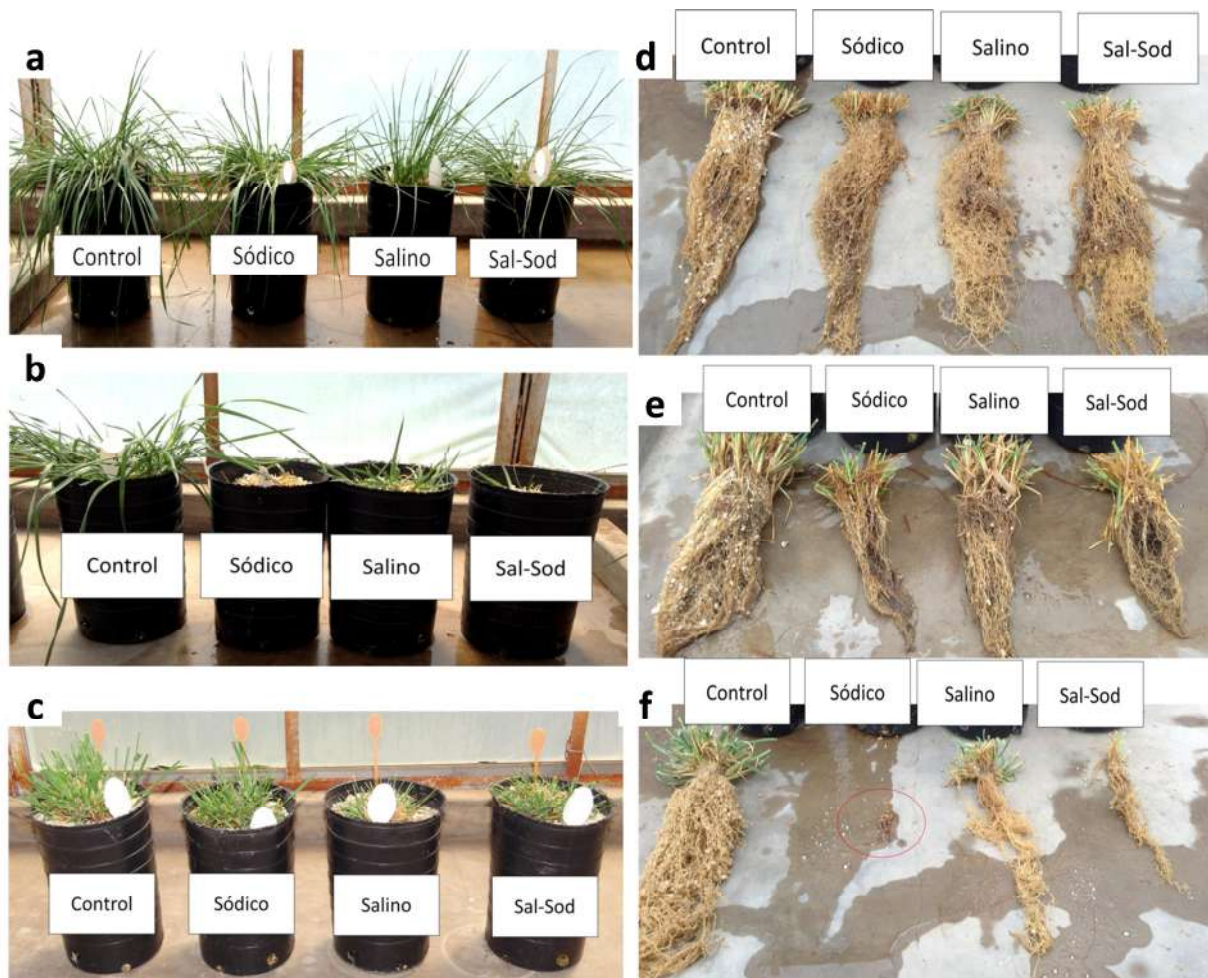
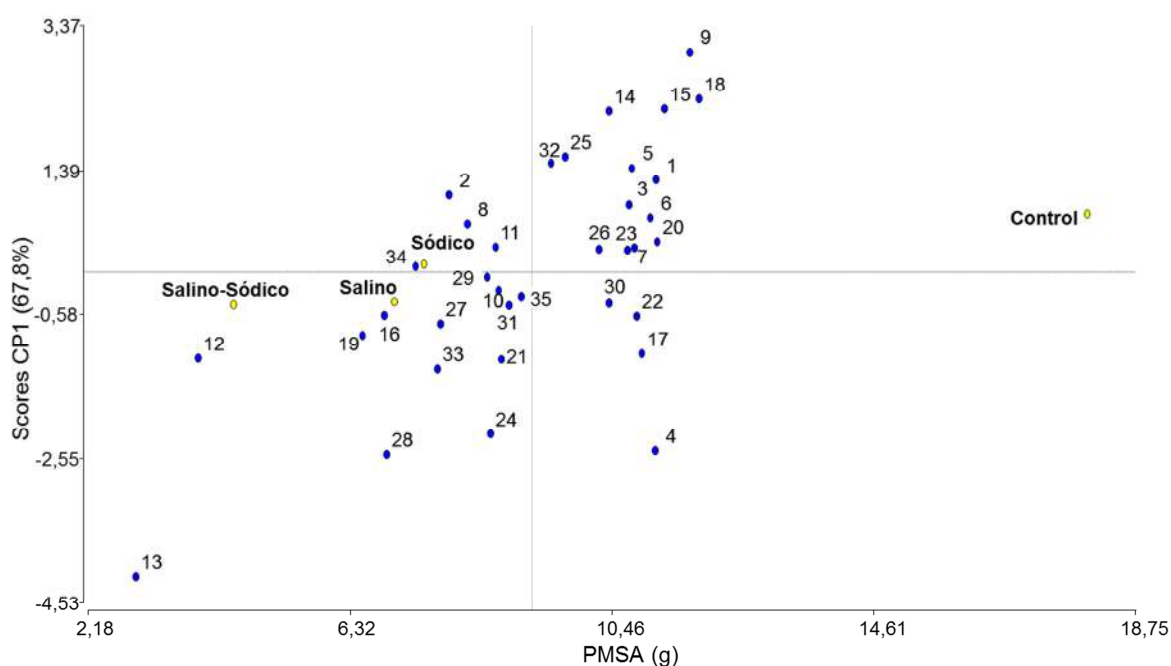


Foto 3.3: a) Genotipo con buen desempeño productivo en los cuatro ambientes; b) genotipo con buen desempeño productivo en el ambiente salino; c) genotipo con buen desempeño productivo en ambientes sódico y salino-sódico; d y e) producción de raíces en genotipo con buen desempeño en los cuatro ambientes; f) producción de raíces en genotipo con pobre desempeño en los ambientes con sales, remarcando mortandad en ambiente sódico.

## 4.2 AMMI I

Este tipo de análisis a diferencia del modelo AMMI II, permitió ver la estabilidad y la productividad de los genotipos en los distintos ambientes. En la figura 3.15 se diferencian los genotipos más productivos y estables (1, 3, 5, 6, 7, 17, 20, 22, 23, 26, 30, 35) de los genotipos menos productivos y menos estables (12, 13, 28) y de los genotipos muy buenos productivamente y poco estables (9, 15, 18).

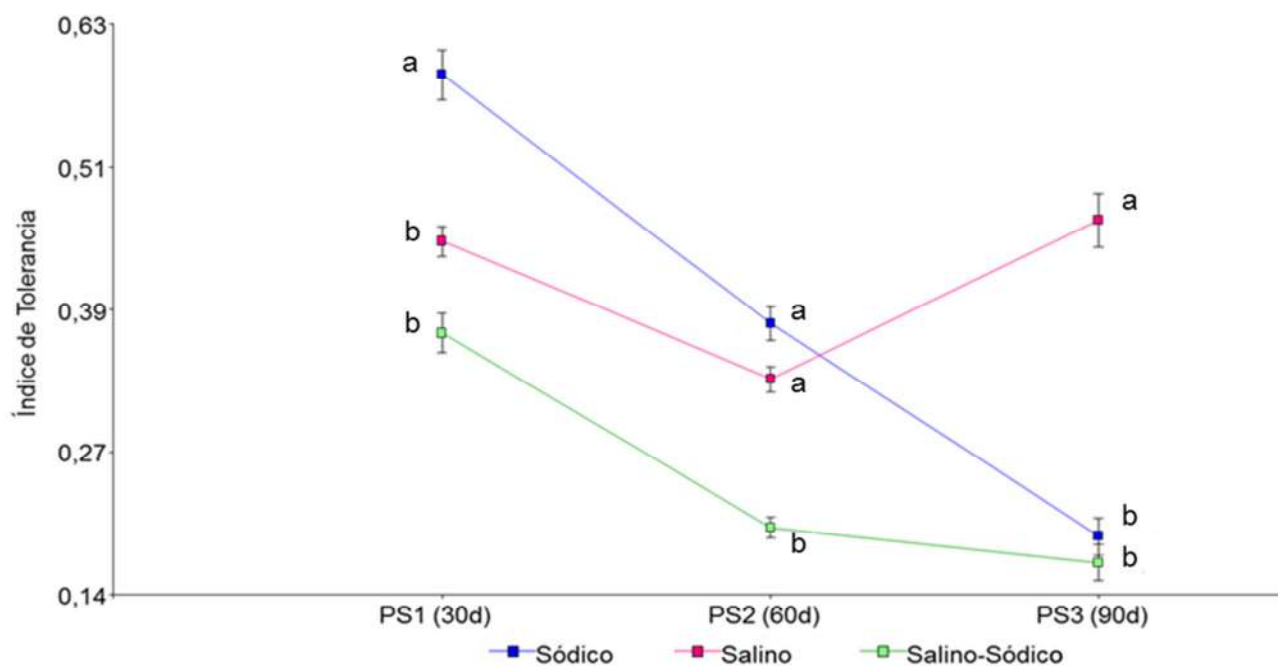


**Figura 3.15:** Rendimiento promedio de la CP1 (Scores CP1) en función de la producción de materia seca acumulada (PMSA) para los 35 genotipos y los cuatro ambientes.

### 4.3 Índice de tolerancia

El índice de tolerancia (IT) se aplicó para complementar los análisis anteriores (Figuras 3.14 y 3.15), tanto a nivel ambiental (el comportamiento de los genotipos por ambiente) como a nivel de los genotipos (el comportamiento promedio de los genotipos en todos los ambientes), y determinar su tolerancia o susceptibilidad al halomorfismo.

Al analizar el IT de los genotipos por ambiente en las fechas de corte (Figura 3.16) se observó una disminución del valor con el paso el tiempo, en particular en los tratamientos sódico y salino-sódico. En el primer corte los genotipos en el ambiente sódico alcanzaron el mayor IT; en el segundo corte el IT mayor se manifestó en los ambientes sódico y salino y en el tercer corte en el salino. Este comportamiento pudo estar afectado por el estrés causado por efecto de la defoliación.



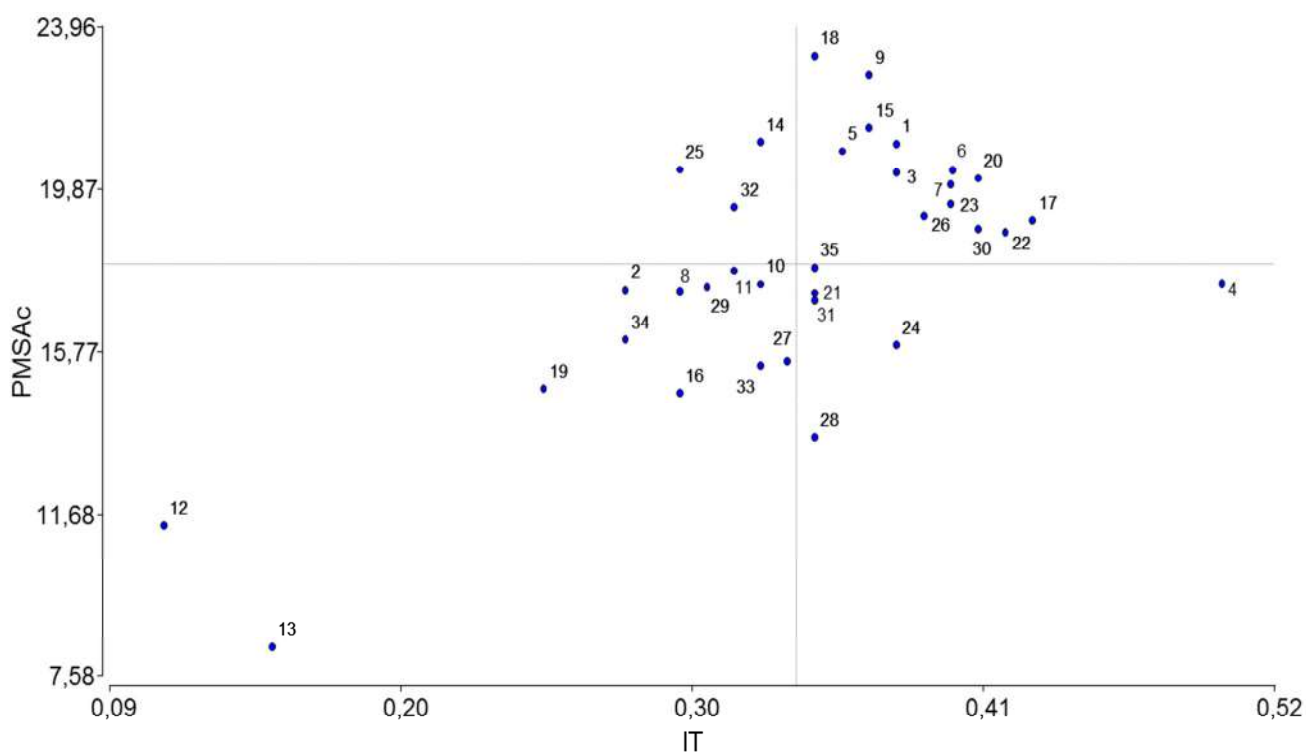
**Figura 3.16:** Índice de tolerancia (IT) y error estándar (E.E. en barras) para cada ambiente con exceso de sales, en las tres fechas de corte (PS1, PS2, PS3). Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Al analizar el IT de los genotipos por ambiente para la PMSA, se observó efecto del ambiente y del genotipo ( $p < 0,05$ ), sin IGA (Anexo Tablas 3.IX y 3.X). El IT tendió a disminuir con los sucesivos cortes (Tabla 3.8) y solo para el PS3 mostró diferencias muy pronunciadas entre los ambientes.

**Tabla 3.8:** Índice de tolerancia (IT) promedio  $\pm$  error estándar ( $\pm$ E.E.), para las tres fechas de corte (PS1; PS2; PS3), IT para la producción de materia seca acumulada (PMSA) evaluados para cada ambiente. Comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Ambiente	IT PS1	IT PS2	IT PS3	IT PMSA
Sódico	0,59 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,01
Salino	0,45 $\pm$ 0,11	0,33 $\pm$ 0,02	0,47 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,01
Salino-Sódico	0,37 $\pm$ 0,11	0,20 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,01
Media	0,47 $\pm$ 0,11	0,30 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,01
LSD	0,093	0,066	0,085	0,031

Al analizar el comportamiento de los genotipos a través de la producción de materia seca en control, y el índice de tolerancia en todos los ambientes, mediante un biplot se observaron cuatro cuadrantes (Figura 3.17). Los genotipos ubicados en el cuadrante superior derecho fueron los que mayor Índice de tolerancia y productividad alcanzaron, por lo tanto, se los consideró Tolerantes (1, 3, 5, 6, 7, 9, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 26, 30 y 35); los genotipos ubicados en el cuadrante inferior izquierdo fueron los que menor índice y productividad presentaron, por lo tanto, se los consideró Susceptibles (2, 8, 10, 11, 12, 13, 16, 19, 27, 29, 33 y 34). El resto de los genotipos presentaron comportamiento variable entre la productividad y el índice de tolerancia.



**Figura 3.17:** Biplot del Índice de tolerancia (IT) de la producción de materia seca acumulada (PMSA) de los tres cortes y la PMSA en el ambiente control.

De los resultados aquí presentados se seleccionaron los genotipos que fueron seleccionados como parentales para el siguiente capítulo y así conformar las familias de medio hermanos tolerantes susceptibles e intermedias que fueron evaluadas en condiciones



de halomorfismo en hidroponia. De este modo se consideraron tolerantes: 7, 15, 18 y 17; susceptibles: 13, 19, 29 y 33, y las intermedias: 5, 6, 8 y 35.

### 5. Efecto del halomorfismo en los genotipos: estimación de los componentes de la variancia y Grado de determinación genética.

En general las estimaciones de los componentes de la variancia: variancia genotípica ( $\sigma^2_g$ ) y variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), y el grado de determinación genética (GDG) variaron acorde al carácter y al tratamiento considerado (Tabla 3.9). El promedio de los GDG de los caracteres por tratamiento varió entre 0,57 en el tratamiento control, 0,54 en salino-sódico, 0,65 en sódico y 0,67 en el salino. Las variables de producción de materia seca (PS) de los tres cortes tuvieron similar GDG, destacándose el mayor valor promedio (0,92) en el tratamiento salino y el menor (0,60) en el salino-sódico. El peso de materia seca acumulada presentó valores similares en los tratamientos con sales y muy bajo en el control (0,23). En cuanto a la tasa de crecimiento diaria (TCD) a excepción del ambiente sódico (0,49), el resto de los ambientes presentaron valores similares y elevados, siendo el salino el que mayor GDG presentó (0,85). El índice de verdor (SPAD), presentó valores bajos (0,09 a 0,34), el sustrato sódico fue el que mayor valor mostró (0,34). La relación  $K^+/Na^+$  presentó valores muy altos (0,98; 0,90; 0,89) en los tratamientos salinos, pero significativamente bajo (0,27) en el tratamiento control.

**Tabla 3.9:** Variancia genética ( $\sigma^2_g$ ), variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), grado de determinación genética (GDG), para las variables en estudio de la población, en función de cada ambiente. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), tasa de crecimiento diario (TCD), índice de verdor (SPAD), área foliar específica (AFE), relación Potasio/Sodio ( $K^+/Na^+$ ) peso de materia seca (PS), peso de manteria seca acumulada (PMSA).

Variable	Parámetro	Ambientes			
		Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
ALt1	( $\sigma^2_g$ )	13,54	14,90	5,29	11,63
	( $\sigma^2_e$ )	18,23	17,72	16,89	12,74
	GDG	0,69	0,72	0,48	0,73
Alt-R1	( $\sigma^2_g$ )	1,82	2,82	0,25	0,98
	( $\sigma^2_e$ )	7,45	4,62	3,46	2,43
	GDG	0,42	0,65	0,18	0,55
	( $\sigma^2_g$ )	22,09	15,37	6,86	8,24

<b>Alt2</b>	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	31,02	17,56	9,42	10,96
	<b>GDG</b>	0,68	0,72	0,69	0,69
<b>Alt-R2</b>	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	1,46	0,59	0,72	0,38
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	2,96	3,17	1,85	1,90
	<b>GDG</b>	0,60	0,36	0,54	0,38
<b>Alt3</b>	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	17,64	0,81	5,81	3,88
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	29,05	10,89	10,24	7,40
<b>Nmac1</b>	<b>GDG</b>	0,65	0,18	0,63	0,61
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	138,77	732,24	365,57	491,07
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	1011,24	709,16	460,96	460,10
<b>Nmac2</b>	<b>GDG</b>	0,29	0,76	0,70	0,76
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	509,86	589,03	455,40	356,45
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	612,07	480,49	504,45	375,97
<b>Nmac3</b>	<b>GDG</b>	0,71	0,79	0,73	0,74
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	466,99	207,65	393,63	166,93
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	486,20	249,96	353,82	245,24
<b>TCD</b>	<b>GDG</b>	0,74	0,71	0,77	0,67
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,49	0,12	0,45	0,17
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,16	0,13	0,08	0,05
<b>SPAD</b>	<b>GDG</b>	0,90	0,74	0,94	0,90
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	1,06	2,31	1,39	0,92
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	6,25	4,58	5,57	9,61
<b>AFE</b>	<b>GDG</b>	0,35	0,61	0,43	0,23
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	6,50	8,47	1,82	19,89
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	42,38	118,16	31,47	53,88
<b>K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup></b>	<b>GDG</b>	0,32	0,18	0,15	0,53
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,12	0,28	0,38	0,44
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,98	0,09	0,14	0,03
<b>PS1</b>	<b>GDG</b>	0,27	0,90	0,89	0,98
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	1,49	1,59	2,25	1,23
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	1,3	0,71	0,28	0,52
<b>PS2</b>	<b>GDG</b>	0,77	0,87	0,96	0,88
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,98	1,25	1,46	0,85
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,98	0,44	0,35	0,19
<b>PS3</b>	<b>GDG</b>	0,75	0,90	0,93	0,93
	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,38	0,08	0,71	0
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	1,1	0,24	0,3	0,26

	<b>GDG</b>	0,51	0,51	0,88	0,00
<b>PMSA</b>	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	1,54	2,43	2,07	1,19
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	5,06	1,93	1,77	1,8
	<b>GDG</b>	0,47	0,79	0,78	0,67

Se estimó el GDG para los índices de tolerancia de cada ambiente halomórfico (Tabla 3.10), los resultados evidenciaron elevada variabilidad genética presente para la producción de materia seca, siendo PS2 y el PMSA los valores más altos.

**Tabla 3.10:** Variancia genética ( $\sigma^2_g$ ), variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), grado de determinación genética (GDG), para el índice de tolerancia por corte (PS1-PS2-PS3), por producción de materia seca acumulada (PMSA), en función de cada ambiente.

Variable	Parámetro	Ambientes		
		Sódico	Salino	Salino-Sódico
IT-PS1	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,05	0,04	0,02
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,04	0,01	0,03
	<b>GDG</b>	0,52	0,71	0,44
IT-PS2	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	1,10	0,48	1,02
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,01	0,01	0,00
	<b>GDG</b>	0,99	0,98	1,00
IT-PS3	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,10	0,19	0,03
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,02	0,04	0,02
	<b>GDG</b>	0,84	0,83	0,57
IT-PMSA	<b>(<math>\sigma^2_g</math>)</b>	0,59	0,58	0,56
	<b>(<math>\sigma^2_e</math>)</b>	0,01	0,01	0,01
	<b>GDG</b>	0,98	0,99	0,99

## 6. Plasticidad fenotípica

En la tabla 3.11 se presenta la estimación de los componentes de varianza para los 35 genotipos de la población creciendo en los cuatro ambientes. Para la interacción genotipo\*ambiente (IGA), se observó que en 9 de los 15 caracteres fue significativa ( $p < 0,05$ ; Tabla 3.4). En términos generales se observó que en 13 de los 16 caracteres analizados, la variancia ambiental fue muy superior a la variancia genética y la de interacción. Esto implicó valores bajos de GDG, a excepción del número de macollos para dos fechas de medición (Nmac1 y Nmac2) y el índice de verdor (SPAD). La heredabilidad de la plasticidad ( $PI^2$ )

alcanzó valores relativamente altos para la mayoría de los caracteres, siendo los más elevados los correspondientes a la producción de materia seca para el segundo (PS2) y tercer corte (PS3) y para la producción de materia seca acumulada (PMSA).

**Tabla 3.11:** Varianza ambiental ( $\sigma^2_A$ ), genotípica ( $\sigma^2_G$ ), de la interacción ( $\sigma^2_{G \times A}$ ), del error ( $\sigma^2_e$ ), fenotípicas ( $\sigma^2_F$ ), plásticas ( $\sigma^2_{pl}$ ) de cada carácter en cada población en estudio en los cuatro ambientes. Heredabilidad plástica ( $PI^2$ ) y grado de determinación genética (GDG). Altura (Alt), número de macollos (Nmac), tasa de crecimiento diario (TCD), índice de verdor (SPAD), área foliar específica (AFE), relación Potasio/Sodio ( $K^+/Na^+$ ) peso de materia seca (PS), peso de manteria seca acumulada (PMSA).

Caracter	$\sigma^2_A$	$\sigma^2_G$	$\sigma^2_{G \times A}$	$\sigma^2_e$	$\sigma^2_{pl}$	$\sigma^2_F$	$PI^2$	GDG
Alt1	28,63	9,78	1,53	16,40	30,16	56,34	0,54	0,17
Alt-R1	26,68	1,09	0,37	4,48	27,05	32,61	0,83	0,03
Alt2	77,10	9,30	3,76	17,25	80,86	107,41	0,75	0,09
Alt-R2	3,59	0,50	0,33	2,44	3,91	6,85	0,57	0,07
Alt3	44,07	3,47	3,32	14,77	47,39	65,63	0,72	0,05
Nmac1	88,03	430,02	-3,01	659,19	85,01	1174,23	0,07	0,37
Nmac2	241,24	459,46	13,36	492,62	254,61	1206,69	0,21	0,38
Nmac3	482,88	254,74	41,33	334,93	524,21	1113,88	0,47	0,23
TCD	0,10	0,02	0,02	0,10	0,12	0,23	0,50	0,06
SPAD	0,26	7,96	0,40	6,50	0,66	15,12	0,04	0,53
AFE	5,19	3,38	8,96	57,26	14,15	74,79	0,19	0,05
$K^+/Na^+$	0,55	0,03	0,03	0,31	0,57	0,91	0,63	0,03
PS1	2,92	1,03	0,04	0,70	2,96	4,69	0,63	0,22
PS2	6,81	0,45	0,08	0,50	6,89	7,84	0,88	0,06
PS3	2,69	0,11	0,05	0,50	2,74	3,35	0,82	0,03
PMSA	35,88	4,29	0,28	2,63	36,16	43,08	0,84	0,10

## DISCUSIÓN

---

Las especies naturalizadas son un recurso forrajero disponible y a menudo poco explorado en los ambientes salinos-sódicos, principalmente por su adaptación a condiciones ambientales y de manejo extremas. Esta adaptación es por lo general una característica evolutiva funcional propia de una población que se origina a través de la selección natural. En especies alógamas, con sistemas complejos aloploidoides, como es el caso del agropiro alargado, se presume que la adaptación a ambientes hidro-halomórficos ha promovido una importante variabilidad genética y plasticidad fenotípica en las poblaciones, y son por lo tanto consideradas una fuente de germoplasma que puede proveer la variabilidad y plasticidad necesarias para desarrollar futuros programas de mejoramiento genético (Duyvendak y Luesink, 1979).

En el presente capítulo, se estudió el crecimiento en estado de planta adulta una población de agropiro en hidroponia en condiciones controladas bajo cuatro sustratos halomórficos que simulaban distintos tipos de suelo (control; salino; sódico; salino-sódico). Los resultados obtenidos indicaron una respuesta diferencial de los genotipos acorde a su estabilidad en todos los ambientes halomórficos y una elevada plasticidad fenotípica. Al analizar el comportamiento de los genotipos en cada ambiente halomórfico, se evidenció afectación del crecimiento dependiendo del ambiente considerado. En general el ambiente salino-sódico fue el más perjudicial. Si bien se analizaron numerosas variables, los indicadores más relevantes para la selección de los genotipos tolerantes fueron el peso de la materia seca acumulada (PMSA), la Relación  $K^+/Na^+$ , la estabilidad y/o adaptabilidad (AMMI) y el Índice de Tolerancia (IT).

### **1. El comportamiento de la población en halomorfismo**

A partir de la fenotipificación morfológica y fisiológica de los genotipos sometidos a halomorfismo y la aplicación del modelo AMMI, se pudo discriminar grupos de individuos acorde a su estabilidad en todos los ambientes considerando la PMSA (Gauch, 1988; Gauch y Zobel, 1997). De esta forma se detectaron genotipos tolerantes y superiores productivamente en determinados ambientes: 9, 14, 15 y 18 en control, 17, 21, 22, y 35 en salino; 7 y 34 en sódico, y 27 y 33 en salino-sódico; y otros que mostraron estabilidad en todos los ambientes: 3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 30, 31, 34.

Las diferencias detectadas dentro de la población estudiada fueron el producto de factores genéticos y ambientales propios de la adaptación en su ambiente natural; como también de la expresión de una variabilidad genética encriptada en los genotipos y liberada cuando las plantas crecieron en concentraciones de sales elevadas. Dentro del contexto de adaptación a nuevos ambientes, la variación encriptada ha sido considerada como un mecanismo para responder a fluctuaciones ambientales, a través de nuevas frecuencias alélicas y genéticas expresadas en fenotipos similares (Bennett, 1970). Solo cambios en las condiciones ambientales pueden revelar la variabilidad genética encriptada, dado que diferentes genotipos parecidos fenotípicamente en un ambiente, no lo son necesariamente en otro ambiente. Esta variación encriptada puede contribuir a la habilidad de la población a invadir nuevos hábitats (Waddington, 1957; Andrés, 1991).

La amplitud ecológica de una especie depende de la cantidad de variabilidad genética que contiene y de su habilidad para ajustarse genéticamente a la condición ambiental. Sin embargo, también depende de la habilidad de las plantas a responder fenotípicamente a través de la plasticidad fenotípica (Baker, 1965; Bradshaw, 1965; Abbott, 1976; Schmid, 1985). En el presente estudio la heredabilidad de la plasticidad fenotípica de la población, expresó valores elevados para la mayoría de los caracteres morfofisiológicos evaluados y muy baja varianza genética. Este tipo de respuesta se considera adaptativa a la variación ambiental producida a pequeña escala. Los valores elevados de la plasticidad se complementaron con los bajos valores de heredabilidad (GDG), y esto puede interpretarse como un comportamiento poblacional atribuible a que los genotipos fueron sometidos experimentalmente a condiciones salinas extremas que redujeron la expresión de la variancia genética.

En especies poco domesticadas, en proceso de adaptación a condiciones ambientales extremas, es posible que el efecto de un estrés abiótico determinado reduzca la expresión del genotipo y por lo tanto su componente genético heredable (Andrés, 1991). Dependiendo de la magnitud, forma y frecuencia de la variación ambiental, las plantas responden genéticamente o a través de modificaciones morfofisiológicas que no implican alteraciones genéticas.

## **2. El comportamiento de los genotipos a los ambientes halomórficos**

Los resultados obtenidos en el presente capítulo indicaron que el comportamiento de los genotipos seleccionados como tolerantes en cada ambiente halomórfico, demostraron buen comportamiento productivo en todos los ambientes, mientras que los susceptibles

demonstraron un comportamiento productivo pobre. A continuación, se describen las tres variables más relevantes para la selección de los genotipos: el peso de la materia seca acumulada (PMSA), la Relación  $K^+/Na^+$ , y el Índice de Tolerancia (IT).

Al analizar el peso de la materia seca acumulada de los genotipos se evidenció que el ambiente salino-sódico fue el más perjudicial de todos los ambientes; sin embargo, aquellos genotipos seleccionados como tolerantes demostraron buena productividad en los tres ambientes halomórficos. En agropiro alargado existen escasos trabajos que comparen el efecto de diferentes tipos de sales en el crecimiento de genotipos adultos clonados. La mayoría de las investigaciones han sido realizadas en condiciones de salinidad por NaCl, con distintas concentraciones y tiempos de exposición y en plántulas (Maciel *et al.*, 2015). Algunas de ellas (Mansilla, 2012) compararon el crecimiento en sustrato sódico y salino, demostrando menor crecimiento en sustrato salino en variables que componen el rendimiento de la materia seca. Palacios *et al.*, (2015) observaron comportamiento similar en estos caracteres a los 15 y 60 días desde iniciado el trasplante en un suelo sódico (CE=1,9dS/m; pH 9,2).

La relación  $K^+/Na^+$  es un indicador para determinar el comportamiento de las plantas a la salinidad; aquellos genotipos que mantienen una alta relación  $K^+/Na^+$  son considerados tolerantes (Al-Ghumaiz *et al.*, 2017; Yeo *et al.*, 1990; García *et al.*, 1997; Flowers *et al.*, 2000; Negrão *et al.*, 2017). En el presente estudio se demostró que en los ambientes halomórficos los genotipos exhibieron un desbalance pronunciado en la relación  $K^+/Na^+$ , que se evidenció en una concentración de  $K^+$  menor y de  $Na^+$  mayor, en particular en el ambiente salino-sódico. Sin embargo, al analizar los genotipos seleccionados como tolerantes se observó una mayor relación  $K^+/Na^+$  que indicaría una mejor regulación de la concentración de ambos iones en hoja para estos genotipos, mientras que los genotipos susceptibles presentaron una baja relación en todos los ambientes halomórficos.

Otro indicador para determinar la tolerancia de las plantas al halomorfismo es el Índice de tolerancia (IT) (Negrão *et al.*, 2017). El IT es el cociente entre la producción de biomasa seca aérea en halomorfismo y en el control (Rosielle y Hamblin, 1981; Fernandez, 1992; Munns *et al.*, 2002). Según los resultados obtenidos en el presente estudio relacionando el IT con la producción de biomasa en el ambiente control, se detectaron dos grandes grupos contrastantes de genotipos, los tolerantes altamente productivos (1, 3, 5, 6, 7, 9, 15, 17, 18,20, 22, 23, 26, 30 y 35), y los susceptibles menos productivos (2, 8, 10, 11, 12, 13, 16, 19, 27, 29, 33 y 34).

Los resultados del presente estudio poblacional permitieron detectar genotipos de interés para ser incorporados a diferentes programas de mejoramiento genético de agropiro alargado. Si el objetivo de la selección fuera obtener cultivares tolerantes y de elevada productividad en suelos salinos, los genotipos 17, 21, 22 y 35 serían los incorporados; en el caso que la selección fuera destinada a obtener cultivares de buen comportamiento en suelos sódicos, los seleccionados serían 2, 7 y 34; para suelos salino-sódicos, los elegidos serían 10, 27 y 33. Si la selección tuviera como objetivo obtener cultivares de buen desempeño en suelos heterogéneos, con grado de halomorfismo variable, los genotipos seleccionados serían 3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23,26, 29, 30, 31, 34.

Con la finalidad de conformar familias de medios hermanos que representaran el espectro de los grupos detectados con diferente tolerancia al halomorfismo, se seleccionaron los genotipos que fueron parentales para el siguiente capítulo, agrupados en tolerantes (7, 15, 17 y 18), susceptibles (13, 19, 29 y 33) e intermedios (5, 6, 8 y 35).



## CONCLUSIONES

---

Los resultados obtenidos en el presente capítulo permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- La variabilidad fenotípica observada para los caracteres morfo-fisiológicos expresó un componente genético diferencial dependiente del ambiente.
- En diferentes condiciones ambientales, la población estudiada expresó un elevado componente plástico heredable, destacándose los elevados valores correspondientes a la producción de materia seca
- El índice de tolerancia y la relación  $K^+/Na^+$  son buenos indicadores para ser utilizados como criterios de selección en programas de mejoramiento de la especie.
- Bajo condiciones de exceso de sales en hidroponia, los genotipos expresaron diferencias morfo-fisiológicas en el crecimiento que permitieron agruparlos como tolerantes y susceptibles.
- Si el objetivo de la selección fuera obtener cultivares tolerantes y de elevada productividad en suelos salinos, los genotipos 17, 21, 22 y 35 serían los incorporados; en el caso que la selección fuera destinada a obtener cultivares de buen comportamiento en suelos sódicos, los seleccionados serían 2, 7 y 34; para suelos salino-sódicos, los elegidos serían 10, 27 y 33.
- Si la selección tuviera como objetivo obtener cultivares de buen desempeño en suelos heterogéneos, con grado de halomorfismo variable, los genotipos seleccionados serían 3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 30, 31, 34.

## **CAPITULO IV**

---

# **COMPORTAMIENTO DE FAMILIAS DE MEDIO HERMANOS CRECIENDO EN CONDICIONES HALOMORFICAS EN HIDROPONIA**

## INTRODUCCIÓN

---

En términos generales los objetivos primarios de los programas de mejoramiento genético de especies forrajeras, han sido el incremento de la productividad en términos de producción total y/o distribución estacional, de la calidad y de la persistencia. En los últimos años la ocurrencia de factores ambientales extremos ha provocado el aumento de los estudios relacionados con la respuesta de los genotipos a factores abióticos como sequía, salinidad, anegamiento y temperaturas extremas, entre otros, con el objetivo de obtener cultivares tolerantes y productivamente estables. Para cumplir con dicho objetivo se requiere de la selección simultánea de varios caracteres, no siempre regulados por el mismo conjunto de poligenes. Esto comprende los caracteres relacionados con la producción de biomasa, aquellos que afectan la producción de semillas y otros que determinan persistencia.

En el caso de la selección por tolerancia a salinidad la complejidad genética del carácter constituye en muchos casos un problema para avanzar en el desarrollo de nuevo germoplasma tolerante al estrés (Munns *et al.*, 2002; Flowers, 2004; Ashraf, 2004). Se ha demostrado que, si bien existe heredabilidad en la tolerancia a la salinidad, esta depende de un número importante de caracteres y está muy influenciada por las interacciones genético-ambientales.

Adicionalmente si la selección se realiza a campo en condiciones de suelos halomórficos, puede ser aún menos efectiva por la elevada interacción genético ambiental. Esta interacción puede ser de tipo “cuantitativa”, es decir, con capacidad de modificar la posición relativa de los genotipos, pero no su orden de jerarquía, o de tipo “cualitativa”, es decir con capacidad de modificar la posición relativa de los genotipos y también su orden de jerarquía (Mariotti, 1986). Cuando el objetivo de la selección es obtener un cultivar específico para un determinado ambiente, la interacción cualitativa puede ser de utilidad ya que indica adaptabilidad específica de ciertos genotipos a determinadas condiciones ambientales.

Por lo tanto, el ambiente de selección es determinante del progreso genético. Existen dos condiciones básicas y fundamentales para definir un “buen ambiente” de selección, una de ellas es que tenga la capacidad de discriminar entre buenos y malos genotipos, es decir debe inducir en la población una elevada expresión de la variabilidad genética presente, que permita realizar la selección con eficacia y expresar heredabilidades altas para todos los caracteres de interés. La otra condición es que tenga una adecuada capacidad de

predicción del comportamiento de las selecciones obtenidas puntualmente, en el área de más probable difusión del cultivo. Es decir, debe existir una alta correlación genética entre las expresiones de los caracteres de selección en el sitio elegido y en los ambientes en que se difundirán los cultivares (baja interacción genotipo-ambiente).

En especies alógamas como el agropiro alargado, los métodos de selección habitualmente utilizados con éxito a campo son la selección recurrente fenotípica y el test de progenies. Ambos permiten estimar la varianza genética aditiva presente en el germoplasma y definir la estrategia de mejoramiento a implementar. La heredabilidad en sentido estricto ( $h^2 = \sigma_a^2 / \sigma_F^2$ ), está dada por el cociente entre la varianza genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ) y la varianza fenotípica ( $\sigma_F^2 = \sigma_G^2 + \sigma_e^2$ ) y expresa el grado en el que los fenotipos están determinados por los genes transmitidos por los padres, es decir que determina el grado de parecido entre parientes y por lo tanto es de gran importancia en los programas de mejoramiento ya que es el principal determinante de la respuesta a la selección. De acuerdo con Stanfield (1971), los caracteres se consideran de heredabilidad alta, cuando esta es mayor que 0,50; de heredabilidad media entre 0,20 y 0,50 y de heredabilidad baja si es menor a 0,20.

Sin embargo, en la selección por tolerancia al estrés salino o halomórfico, los métodos de selección basados en evaluaciones de familias de medios hermanos en ambientes controlados de invernáculo y cámaras de crecimiento, resultan más efectivos y predicen con mayor certeza el daño causado por el estrés en caracteres morfológicos y fisiológicos. Estas variables representan los efectos combinados genéticos y ambientales, sobre el crecimiento de las plantas y se relacionan con los mecanismos fisiológicos y los indicadores bioquímicos de la tolerancia a la salinidad (Noble y Rogers, 1992; Franco *et al.*, 1993; Ashraf y Harris, 2005; Cramer, 2003), permitiendo establecer criterios de selección.

En el presente capítulo se estudió el crecimiento en estado de plántula de 12 familias de medios hermanos derivadas de 35 genotipos de agropiro (Capítulo III), en condiciones de halomorfismo en hidroponia, considerando cuatro ambientes con exceso de sales que simulaban distintos tipos de suelo: 1. control; 2. salino; 3. sódico; 4. salino-sódico, con el objetivo de establecer criterios de selección en la especie.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

### **Hipótesis**

- Bajo condiciones de halomorfismo en hidroponia, la descendencia de la población estudiada expresa diferencias morfo-fisiológicas en el crecimiento que permiten agruparlos como tolerantes, intermedias y susceptibles.
- La variabilidad fenotípica observada para los caracteres morfo-fisiológicos expresa un componente genético aditivo factible de seleccionar que depende del ambiente (tipo de sales).

### **Objetivos**

- Detectar diferencias morfo-fisiológicas en el crecimiento de las FMH en distintas condiciones de halomorfismo en hidroponia.
- Identificar y agrupar a las FMH como tolerantes, intermedias y susceptibles a los diferentes ambientes a través de indicadores asociados a la tolerancia al halomorfismo.
- Estimar componentes de varianza fenotípica y heredabilidad en sentido estricto en caracteres morfo-fisiológicos en los diferentes ambientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 1. Las familias de medios hermanos estudiadas

Las 12 familias de medios hermanos (FMH) seleccionadas como tolerantes (7, 15, 17 y 18), susceptibles (13, 19, 29 y 33) e intermedias (5, 6, 8 y 35) de la población estudiada en el capítulo III, se cosecharon de la nursery a campo (caracterizada en el capítulo II), y se sembraron en vasos de 400cc en febrero 2016 hasta el momento del trasplante (8-10 macollos) a condiciones semi-controladas de halomorfismo en hidroponia.

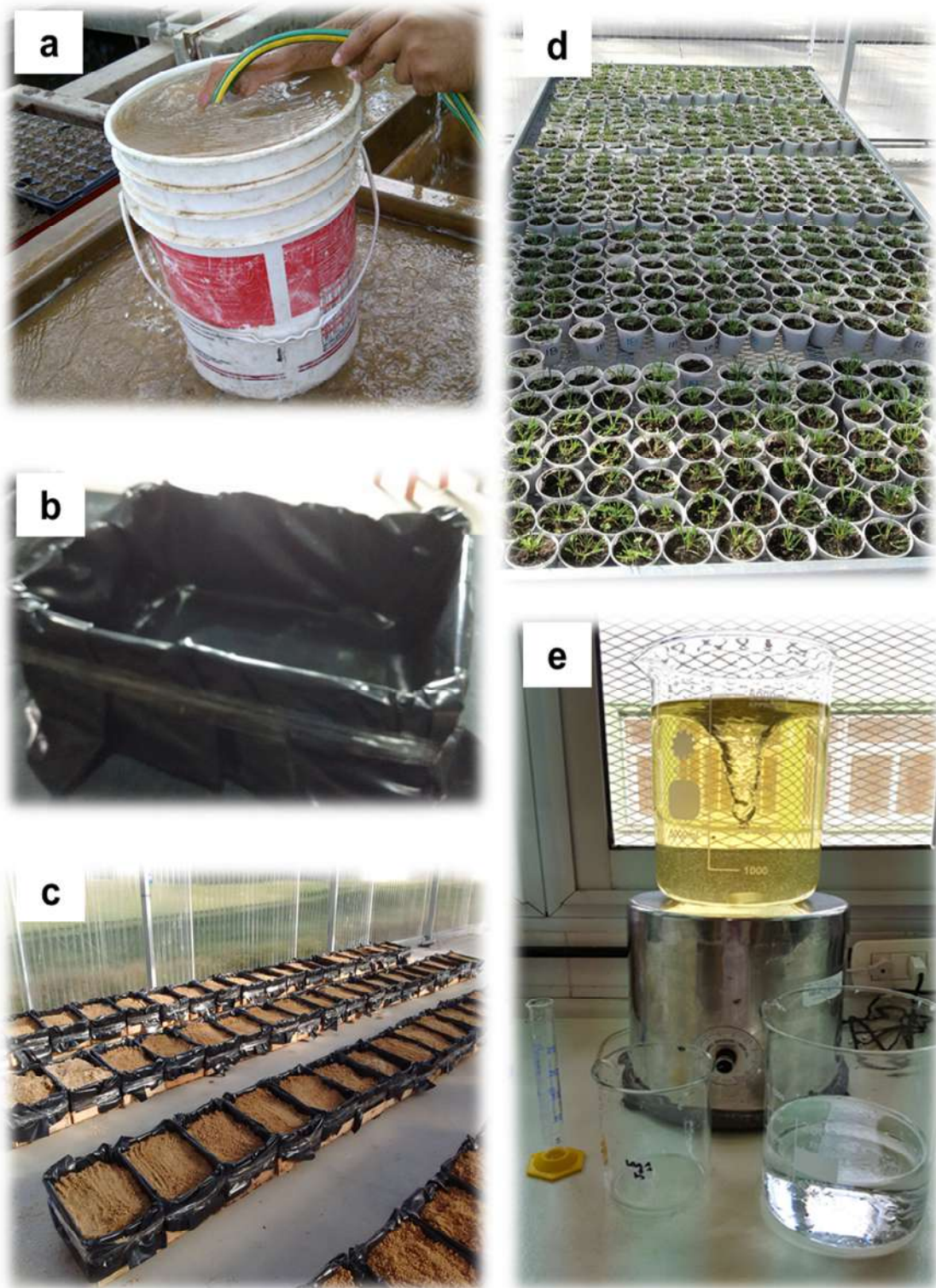
### 2. Acondicionamiento en invernáculo, siembra y diseño aplicado

#### 2.1 Diseño experimental

El diseño experimental fue parcelas divididas en bloques con tres repeticiones y cuatro ambientes logrados con combinaciones específicas de determinadas sales para simular distintos tipos de suelo: 1. control; 2. salino; 3. sódico; 4. salino-sódico (Tabla 4.1). La parcela mayor correspondió al ambiente y la parcela menor a la FMH. Cada FMH estuvo representada por 24 genotipos (8 plantas por FMH por repetición).

#### 2.2 El sustrato y las soluciones (ambientes)

El sustrato de base utilizado fue arena lavada, con agua de canilla y lluvia, y perlita en proporción 1:1. Se descartó presencia de sales y materia orgánica aplicando ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno respectivamente (Foto 4.1). El sustrato acondicionado, se colocó en cajones de madera (50cm x 35cm x 25cm) recubiertos con nylon negro, perforado en la base para permitir el drenaje (Foto 4.2). Las soluciones de riego (capítulo III) con solución nutritiva Hoagland según protocolo (Hoagland y Arnon, 1950), agua destilada (solución concentrada), agua de canilla y las sales específicas para cada tratamiento (Tabla 4.1). El preparado de la solución de riego salina, fue con agua de canilla a la cual previamente se le agrego ácido sulfúrico, para disminuir el pH a valores de 6,5-7,5 (Foto 4.1).



**Foto 4.1:** a) Lavado de arena con agua de canilla, b) y c) Preparado de cajones con film, y mezcla de arena lavada: perlita. d) Plántulas creciendo en vasos hasta lograr 8-10 macollos, e) Preparado de la solución nutritiva de Hoagland en laboratorio.





**Foto 4.2:** a) Trasplante y perforación de los cajones, b) y c) disposición del ensayo en invernáculo.



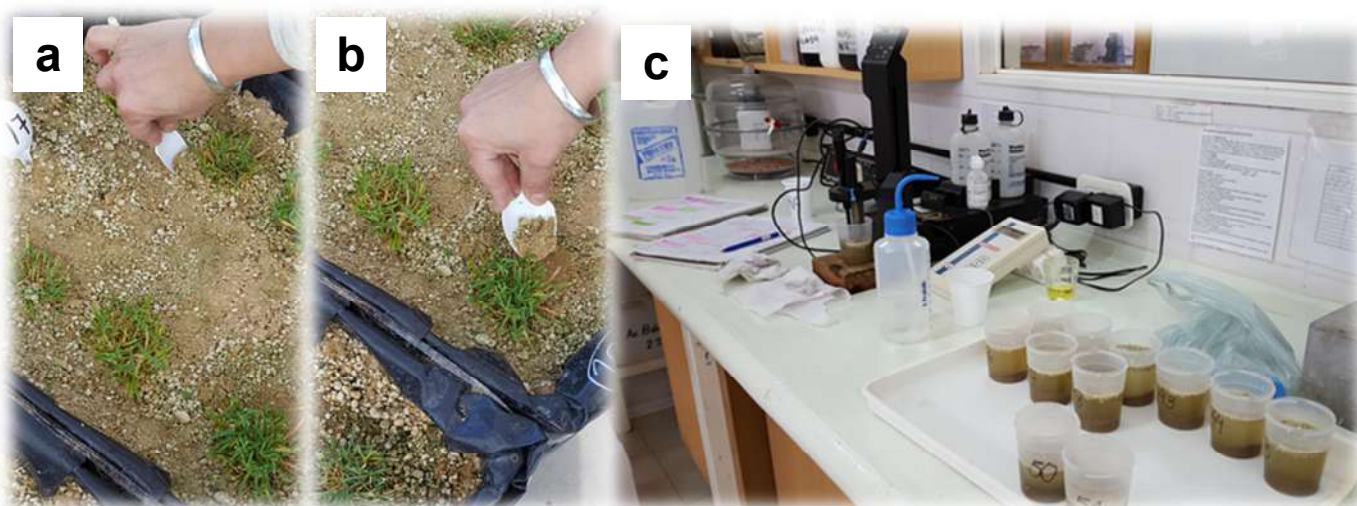
### 2.3 Inicio del experimento

El 26 de abril de 2016 se trasplantaron las 12 FMH en los cajones con el sustrato base y fueron regados con agua de canilla durante cinco días y con solución nutritiva Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950) durante otros 15 días, para su acondicionamiento, hasta dar inicio a la aplicación de los tratamientos (ambientes). La aplicación de los mismos, se realizó de manera gradual, para evitar un estrés por shock (Noaman *et al.*, 2002; Parida y Das, 2005). Cada cajón fue monitoreado cada 15-20 días para analizar valores de pH y CE, con equipos del Laboratorio Regional de la EEA Pergamino (Foto 4.3), cuando fue necesario se realizaron lavados de sales con agua de pH 6,0-6,5.

**Tabla 4.1:** Ambientes generados con los tratamientos aplicados para evaluar las 12 FMH.

Características	CE (dS m <sup>-1</sup> )	pH	Concentración (mM)	Sales empleadas
<b>Ambientes*</b>				
<b>Control</b>	<4	6,5-7,5	-	
<b>Sódico</b>	<4	>8,5	20;20	Bicarbonato de Sodio (HCO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> ) y Carbonato de Sodio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
<b>Salino</b>	>4	<8,5	250	Cloruro de Sodio (ClNa)
<b>Salino-Sódico</b>	>4	>8,5	250; 20; 20	ClNa; HCO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> ; Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

\*Según valores USDA (Richards, 1954)



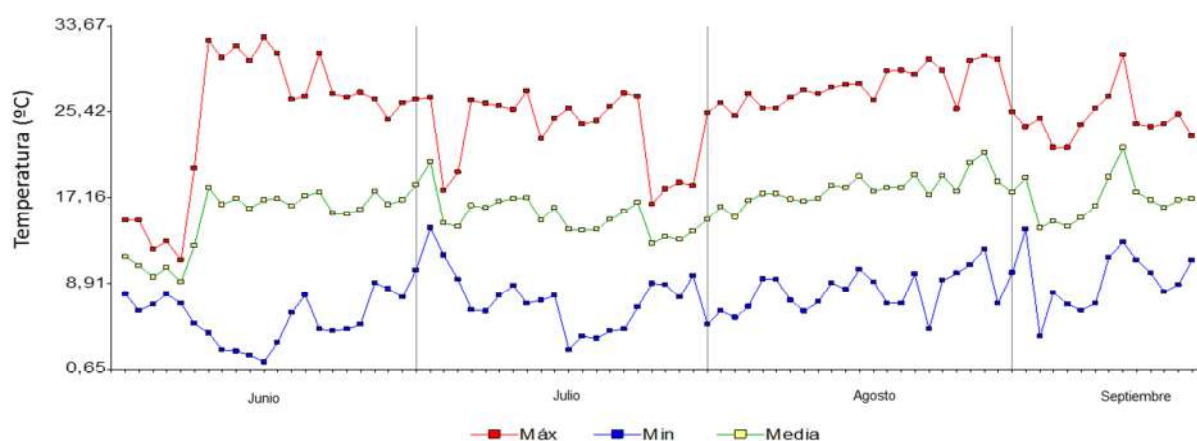
**Foto 4.3:** a) y b) Muestreo y monitoreo de CE (dS m<sup>-1</sup>) y c) medición en mesada de pH de los sustratos muestreados en los cajones.

### 3. Caracteres evaluados

Entre los meses de mayo a septiembre de 2016 se realizó la fenotipificación morfológica y fisiológica, para ello se registraron 17 caracteres morfológicos y 6 caracteres fisiológicos en planta individual en diferentes fechas (Tabla 4.2; Foto 4.4). En la figura 4.1, se observan los datos de temperatura correspondiente al periodo mencionado dentro de invernáculo.

**Tabla 4.2:** Caracteres (abreviatura; unidad) y momento de evaluación (fecha y en días desde aplicado los tratamientos que generaron los ambientes) para las 12 FMH.

Caracteres	Carácter	Abreviatura, Unidad	Fecha de Medición	
			Fecha	Días (desde aplicados los tratamientos)
<b>Morfológicos</b>	Altura primera medición	Alt-0 (cm)	16/05/16	16
	Altura al primer corte	Alt-1 (cm)	12/07/16	40
	Altura al segundo corte	Alt-2 (cm)	17/08/16	80
	Altura al tercer corte	Alt-3 (cm)	13/09/16	110
	Número macollos vegetativos primera medición	Nmac0	16/05/16	16
	Número macollos vegetativos al primer corte	Nmac1	12/07/16	40
	Número macollos vegetativos al segundo corte	Nmac2	17/08/16	80
	Número macollos vegetativos al tercer corte	Nmac3	13/09/16	110
	Área Foliar primer corte	AF1 (cm <sup>2</sup> )	12/07/16	40
	Hábito de Crecimiento	HC	17/08/16	80
	Ancho de Hoja	A-Hoja (mm)	17/08/16	80
	Largo de Hoja	L-Hoja (cm)	17/08/16	80
	Producción de materia seca primer corte	PS1 (g)	12/07/16	40
	Producción de materia seca segundo corte	PS2 (g)	17/08/16	80
	Producción de materia seca tercer corte	PS3 (g)	13/09/16	110
	Producción de materia seca acumulada de los tres cortes	PMSA (g)	13/09/16	110
	Largo Raíces	L-Raíces (cm)	13/09/16	110
<b>Fisiológicos</b>	CRA inicio	CRA-24h	31/05/16	1
	MDA	MDA (mM MDA/mg PF)		
	FRAP	FRAP (µmoles/gPF)		
	CRA final	CRA-110d	13/09/16	110
	Acumulación de iones: sodio, potasio, calcio y magnesio	AI (nmoles/mg ps)	10/09/16	107
	Índice de Tolerancia	IT	PS1-PS2-PS3 y PMSA	Acorde al momento de corte



**Figura 4.1:** Temperaturas: máxima (Máx), mínima (Min) y media en °C, dentro de invernáculo.

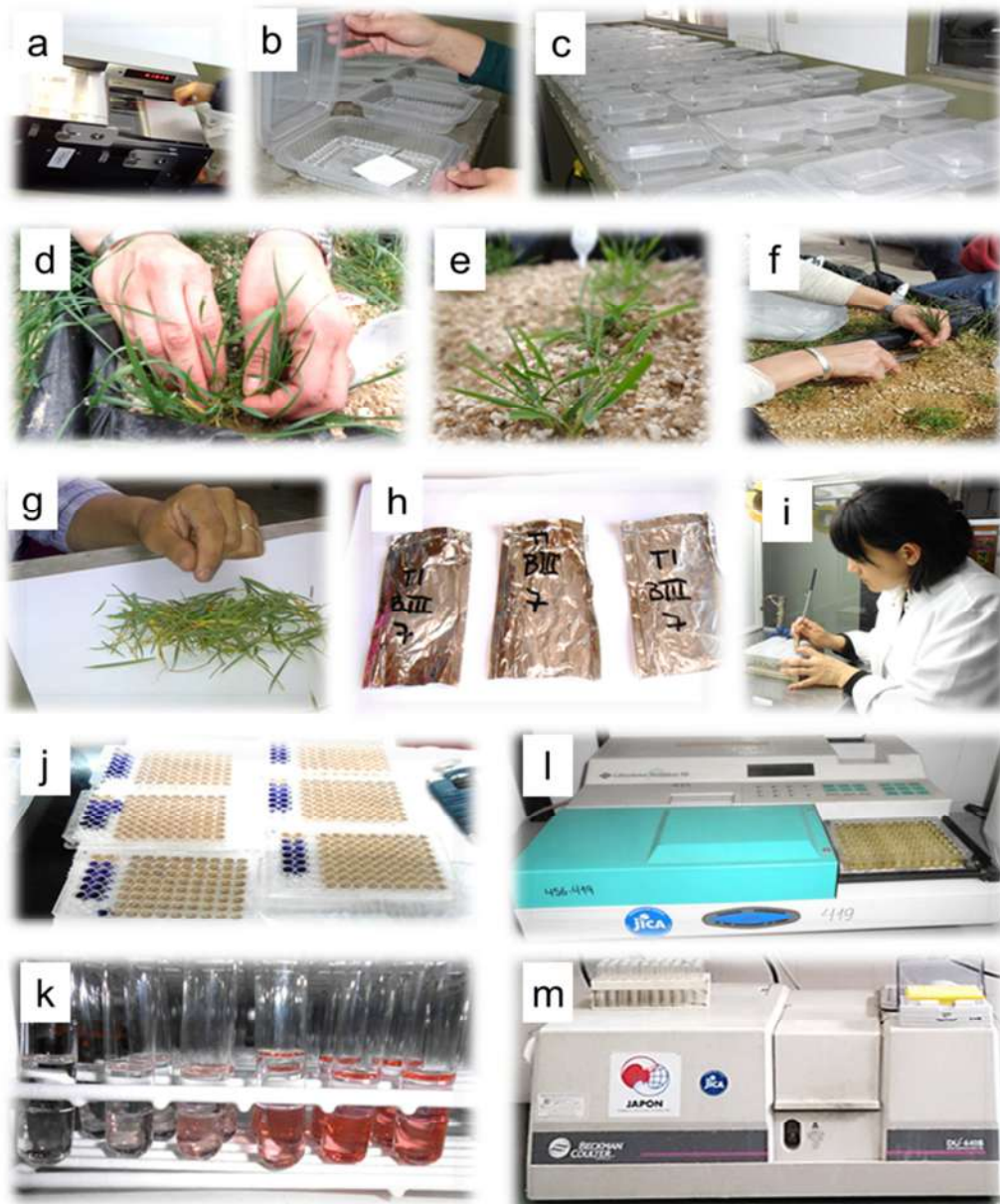
A continuación, se indican los registros por carácter evaluado: **Altura de planta (Alt):** con una regla graduada (cm) apoyada en el centro de cada planta hasta el extremo superior. **Número de macollos vegetativos (Nmac):** por conteo directo del número de macollos producido por cada planta. **Peso de la materia seca primer, segundo y tercer corte (PS1; PS2; PS3):** corte con tijera a 3 cm desde la superficie del cajón, con identificación y conservación en bolsas de papel tipo kraft; secado en estufa de aire forzado (60°C; 48 hs) y pesado (g/planta) en balanza OHAUS TS4ks (Máx 4000g, d=0,1g). **Peso de la materia seca acumulada de los tres cortes (PMSA):** correspondió a la suma de la materia seca en gramos de los tres cortes realizados. **Área Foliar primer corte:** para cada planta cosechada durante el primer corte, se midió el área foliar por utilizando equipo Li-cor LI-3100C. **Hábito de Crecimiento:** se midió a través de escala visual: 1-postrado, 2-semipostrado, 3-intermedio, 4-semierecto, 5-erecto. **Ancho de Hoja:** se midió con regla graduada desde en el tercio medio de una hoja tomada al azar totalmente expandida. **Largo de Hoja:** en la misma hoja que se midió el ancho, se midió el largo de hoja desde la base hasta la punta. **Largo Raíces:** una vez realizado en último corte de biomasa aérea se procedió a limpiar cada planta y medir el largo desde la base hasta la punta. **Contenido Relativo de Agua (CRA):** se midió a las 24hs y al final del ensayo, se realizó según Díaz-Pérez *et al.* (1995):

$$\text{CRA} = \frac{\text{Peso Fresco} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso a saturación} - \text{Peso Seco}}$$

**Malondihaldehido (MDA):** La peroxidación lipídica, medida como concentración de MDA (mM MDA/mg PF), se determinó por la reacción con al ácido tiobarbiturico (TBA) según el método descrito por Heath y Packer, 1968. **Reducción de ácido férrico (FRAP siglas del inglés: Ferric Reducing Ability of Plasma):** para la medición de esta variable se realizó

según protocolo de Strain JJ, 1996. **Acumulación de iones (AI)**: se realizó el mismo protocolo que el mencionado en el capítulo III. **Índice de tolerancia**: es una medida de la reducción de una variable en un determinado tratamiento ( $X_t$ ) respecto de la misma variable en el control ( $X_c$ ),  $IT = X_t / X_c$ .

**MDA, FRAP, AI**: Estas mediciones se realizaron en el Centro de Investigación Agropecuaria-IFRGGV-INTA



**Foto 4.4:** Ejemplo de Mediciones realizadas durante el período de ensayo: a) área foliometría; b) y c) contenido relativo de agua (CRA); d)-h) obtención y acondicionamiento de la muestra en invernáculo; i)-k) obtención de muestra para realizar parámetros fisiológicos; l) lector de microplacas Labsystems Multiskan MS, m) espectrofotómetro Beckman Coulter DU 640B.



#### 4. Análisis de variancia entre y dentro de FMH

Con el fin de analizar la significancia de las variancias de los diferentes caracteres entre y dentro de las FMH se realizaron los siguientes análisis, se utilizó un modelo de parcelas divididas en un arreglo en bloques:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \gamma_j + \delta_{ij} + \beta_k + \rho_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  representa la respuesta observada en el k-ésimo bloque, i-ésimo ambiente y j-ésimo genotipo,  $\mu$  es la media general de la respuesta,  $T_i$  representa el efecto del i-ésimo ambiente,  $\gamma_j$  representa el efecto de la j-ésimo familia de medio hermano (FMH) y  $\delta_{ij}$  representa el efecto de la interacción ambiente\*FMH. Por otra parte,  $\beta_k$ ,  $\rho_{ik}$  y  $\epsilon_{ijk}$  corresponde a efectos aleatorios de los bloques, de las parcelas dentro de los bloques y de los errores experimentales. Luego de realizar este análisis con el objetivo de detectar que genotipos difirieron significativamente en la media de los caracteres evaluados, se realizó la *prueba t* para la diferencia mínima significativa (LSD, “*least significance difference*”; DGC, “*Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves*”).

Tabla 4.3: Fuentes de variación, grados de libertad (GL), cuadrados medios (CM) y esperanza de cuadrados medios (E(CM)), para cada componente de la variancia en el análisis entre familias en los distintos ambientes.

Fuente de variación	GL	CM	E(CM)
<b>Bloques</b>	r-1		
<b>Ambientes</b>	t-1	CM <sub>T</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A} + g.\sigma^2_{R^*A} + r.g.\sigma^2_A$
<b>Bloque*Ambiente</b>	(t-1)*(r-1)	CM <sub>R^*A</sub>	$\sigma^2_E + g.\sigma^2_{R^*A}$
<b>FMH</b>	g-1	CM <sub>G</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A} + r.t.\sigma^2_G$
<b>FMH*Ambiente</b>	(g-1)*(t-1)	CM <sub>G^*A</sub>	$\sigma^2_E + r.\sigma^2_{G^*A}$
<b>Error</b>	(r-1)*(ag-1)	CM <sub>E</sub>	$\sigma^2_E$

Dónde:

GL= grados de libertad,

E (CM)= esperanza de los cuadrados medios,

r= n° de bloques (repeticiones),

t= n° de ambientes,

g= n° de familias de medio hermanos (FMH),

$\sigma^2_E$ = varianza del error,

$\sigma^2_{R^*A}$ ;  $\sigma^2_{G^*A}$  = varianzas de las interacciones,

$\sigma^2_A$ = varianza del ambiente,

$\sigma^2_G$ = varianza entre FMH

Cálculos de las varianzas a partir de los cuadrados medios según las siguientes ecuaciones:

$$\sigma^2_A = (CM_A - CM_{R^*A} - CM_{A^*G} + CM_E)/r^*g$$

$$\sigma^2_G = (CM_G - CM_{A^*G})/r.t$$

$$\sigma^2_{G^*A} = (CM_{A^*G} - CM_E)/r$$

$$\sigma^2_E = CM_E$$

#### 4.1 Estimación de componentes de variancia por ambiente

Los componentes de variancia para cada variable se estimaron a partir de los modelos lineales mixtos del paquete estadístico Infostat® en interfaz con R (Di Renzo *et. al*, 2012). Las FMH y las repeticiones se consideraron como efectos aleatorios, de este modo se obtuvieron los parámetros de los efectos aleatorios: desvíos y correlaciones.

$$\sigma^2_G = (\delta_G)^2$$

$\sigma^2_G$ = Variancia genética

$\delta_G$ = Desvío genético

$$\sigma^2_E = (\delta_e)^2$$

$\sigma^2_e$  = Variancia ambiental

$\delta_e$ = Desvío ambiental

$$\sigma^2_F = \sigma^2_G + \sigma^2_e$$

$\sigma^2_F$  = Variancia fenotípica

#### 4.2 Estimación de la heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) por ambiente

La heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) se define como el cociente de la variancia genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ) sobre la variancia fenotípica ( $\sigma_F^2$ ):

$$h^2 = \sigma_a^2 / \sigma_F^2$$

La heredabilidad expresa la proporción de la variancia total que es atribuible a los efectos medios de los genes y esto es lo que determina el grado de parecido entre parientes. La función más importante de la heredabilidad en el estudio genético es su papel predictivo que expresa la confiabilidad del valor fenotípico como indicador del valor reproductivo. En el mejoramiento tradicional únicamente pueden medirse los valores fenotípicos de los individuos, pero el valor reproductivo es lo que determina su influencia en la siguiente generación. De este modo, si el mejorador o el experimentador seleccionan individuos para que sean progenitores de acuerdo a sus valores fenotípicos, el éxito en cambiar las características de la población puede predecirse únicamente a partir del conocimiento del grado de correspondencia entre los valores fenotípicos y los reproductivos. Este grado de correspondencia es medido a través de la heredabilidad (Falconer, 1989).

De los componentes de la variancia estimados a partir de los cuadrados medios (CM), la variancia familiar ( $\sigma_G^2$ ) representa la variancia genética entre las familias de medio hermanos, la cual es igual a la covariancia entre medios hermanos (covMH), y puede ser utilizada para estimar la variancia aditiva ( $\sigma_a^2$ ), ya que  $\sigma_G^2 = \text{cov}(\text{MH}) = 1/4 \sigma_a^2$ , entonces, la variancia aditiva puede estimarse como:

$$\sigma_a^2 = 4 * \sigma_G^2$$

Las estimaciones de la heredabilidad en sentido estricto en base a planta individual se realizaron en base a los componentes de la variancia del análisis por planta individual (Nguyen y Sleper, 1983), según la siguiente fórmula:

$$h^2_{\text{individual}} = 4 * \sigma_G^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_e^2 + \sigma_w^2)$$

Dónde,  $\sigma_e^2$  es la variancia del error que expresa la variación ambiental entre repeticiones,  $\sigma_G^2$  es la variancia genética existente entre familias de medios hermanos y  $\sigma_w^2$  es la variancia dentro de cada familia de medio hermano o variancia planta a planta. Esta  $h^2_{\text{individual}}$  se aplicó a todos los caracteres que se evaluaron con un número mayor a nueve plantas por FMH.

También se estimó para comparar, la heredabilidad en sentido estricto en base a los componentes de la variancia del análisis de la media de la parcela (Nguyen y Sleper, 1983), según la siguiente fórmula:

$$h^2_{PMH} = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_e/r + \sigma^2_w/r*n)$$

Dónde r son las 3 repeticiones, n el número de plantas por repetición,  $\sigma^2_e$  es la variancia del error que expresa la variación ambiental entre repeticiones,  $\sigma^2_G$  es la variancia genética existente entre familias de medios hermanos y  $\sigma^2_w$  es la variancia dentro de cada familia de medio hermano o variancia planta a planta.

Del mismo modo se estimó la heredabilidad en sentido estricto en base a los componentes de la variancia del análisis de la media de la parcela (Nguyen y Sleper, 1983), según la siguiente fórmula:

$$h^2_{PMH} = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_e/r)$$

Ésta se aplicó cuando los caracteres fueron tomados como media por parcela: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, MDA y FRAP.

## 5. Análisis Multivariado: Componentes Principales

Con los datos obtenidos de las variables morfo-fisiológicas, se realizaron los análisis multivariados con el objetivo de detectar diferencias y/o similitudes entre las FMH (Crisci y Lopez Armengol, 1983). Los análisis aplicados fueron: Análisis de Componentes Principales y Análisis de Conglomerados Jerarquizado (Cluster), a través del paquete estadístico Infostat®.

El Análisis de Componentes Principales (ACP) se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo de este análisis es poder condensar la información obtenida, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad posible.



## RESULTADOS

### 1. Efecto del halomorfismo en las FMH: Caracteres Morfológicos

De manera descriptiva en el Tabla 4.4 se observa, la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el efecto de ambiente, el efecto de familia de medio hermanos (FMH) y la interacción FMH\*ambiente (IGA), para todos los caracteres evaluados en las 12 FMH creciendo en los cuatro ambientes. Los resultados indicaron efecto de los ambientes ( $p < 0,05$ ) para todos los caracteres a excepción de la altura inicial (Alt-0) y el número de macollos inicial (Nmac0), y diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las FMH para todos los caracteres a excepción del peso de materia seca al segundo corte (PS2). En cuanto a la IGA, fue significativa para 12 de los 17 caracteres: Alt-2, Alt-3, Nmac0, Nmac1, Nmac2, Nmac3, AF1, HC, A-Hoja, L-Hoja, PS1, PS2, PS3, PMSA y L-Raíces ( $p < 0,05$ ), el resto no presentó significancia a este nivel: Alt-0, Alt-1, L-Hoja, PS2, PS3 y PMSA.

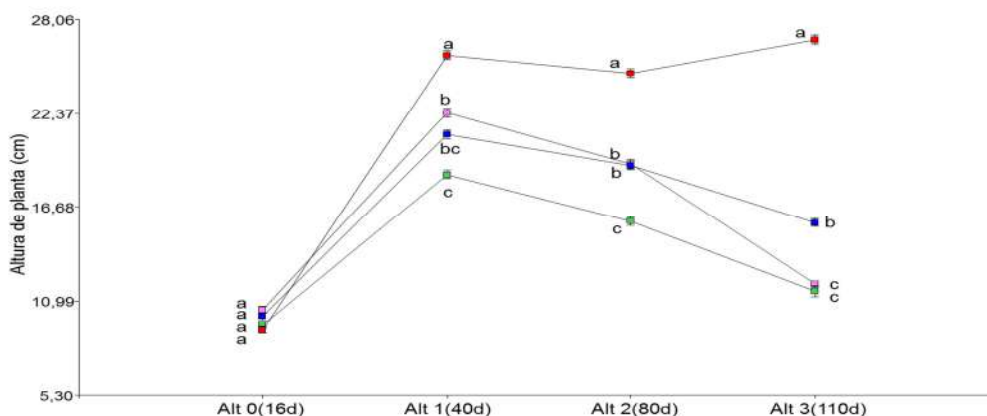
**Tabla 4.4:** Comportamiento promedio de las 12 FMH y los cuatro ambientes para todos los caracteres morfológicos evaluados. Media, desvío estándar (D.E.) coeficiente de variación (CV), valor p del efecto de los factores Ambiente, FMH, e interacción entre los mismos (IGA). Altura (Alt), número de macollos (Nmac), hábito de crecimiento (HC), ancho de hoja (A-Hoja), largo de hoja (L-Hoja), área foliar (AF1), peso materia seca (PS), producción de materia seca acumulada (PMSA), largo de raíces (L-Raíces).

Caracteres	Media	D.E.	CV	Mínimo	Máximo	Valor p		
						Ambiente	FMH	IGA
Alt-0 (cm)	9,87	3,62	36,66	1,00	23,00	0,2508	<0,0001	0,1361
Alt-1 (cm)	22,02	5,17	23,47	7,50	39,60	0,0029	<0,0001	0,0701
Alt-2 (cm)	19,79	5,43	27,46	2,50	40,70	0,0005	<0,0001	0,0011
Alt-3 (cm)	16,55	7,67	46,35	5,00	83,00	<0,0001	<0,0001	0,0010
Nmac0	11,49	3,65	31,72	2,00	24,50	0,4674	<0,0001	0,0142
Nmac1	23,98	9,39	39,15	2,00	66,00	0,0166	<0,0001	0,0003
Nmac2	30,55	14,03	45,91	4,00	92,00	0,0288	<0,0001	<0,0001
Nmac3	34,17	16,49	48,26	4,00	132,00	0,0358	<0,0001	<0,0001
HC (1-5)	2,24	1,10	49,24	1,00	12,00	0,0016	<0,0001	<0,0001
A-Hoja (mm)	576	2,36	0,76	32,27	0,50	0,0001	0,0002	0,0094
L-Hoja (mm)	576	11,14	4,37	39,23	1,50	0,0002	<0,0001	0,4309
AF1 (cm <sup>2</sup> )	111,59	50,44	45,2	12,53	376,00	0,0011	<0,0001	0,0067
PS1 (g)	0,56	0,25	45,4	0,06	1,77	0,0134	0,0004	0,0018
PS2 (g)	0,63	0,39	62,3	0,03	2,85	0,0002	0,0693	0,3577
PS3 (g)	0,66	0,55	84,14	0,01	3,32	0,0007	0,0028	0,8467
PMSA (g)	1,84	1,08	58,74	0,23	6,46	0,0001	0,0111	0,7886
L-Raíces (cm)	26,96	12,88	47,76	4,5	97,50	0,0004	0,0075	0,0003

Nota: En las figuras los ambientes se representaran con los siguientes colores

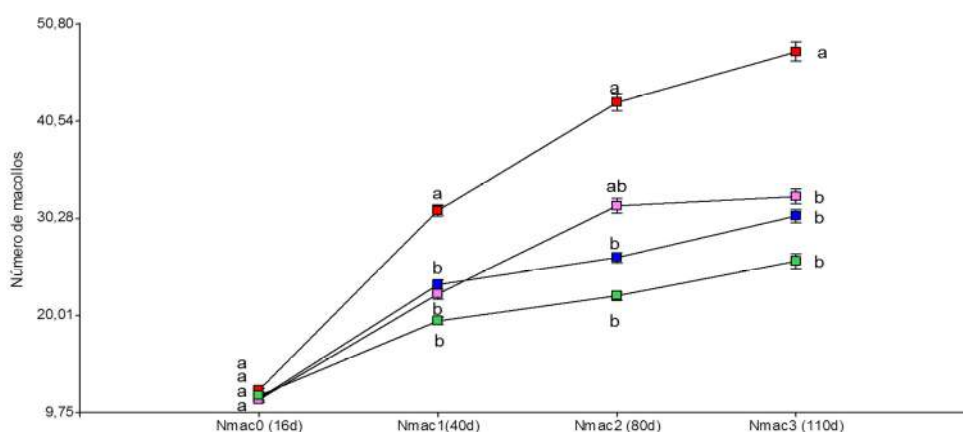
■ Control     
 ■ Sódico     
 ■ Salino     
 ■ Salino-Sódico

La **altura de planta** lograda por las FMH en el ambiente control fue superior a la del resto de los ambientes en todas las fechas de medición a excepción de la primera, realizada a los 16 días (Figura 4.2). Para alturas medidas a los 40 y 80 días, los ambientes sódico y salino, fueron similares y superiores al ambiente salino-sódico, este último presentó los menores valores de altura para las últimas tres fechas. En tanto que para la última fecha de medición los ambientes salino y salino-sódico redujeron la altura de planta al mismo nivel. A partir de la tercera medición se observó IGA (Tabla 4.4)



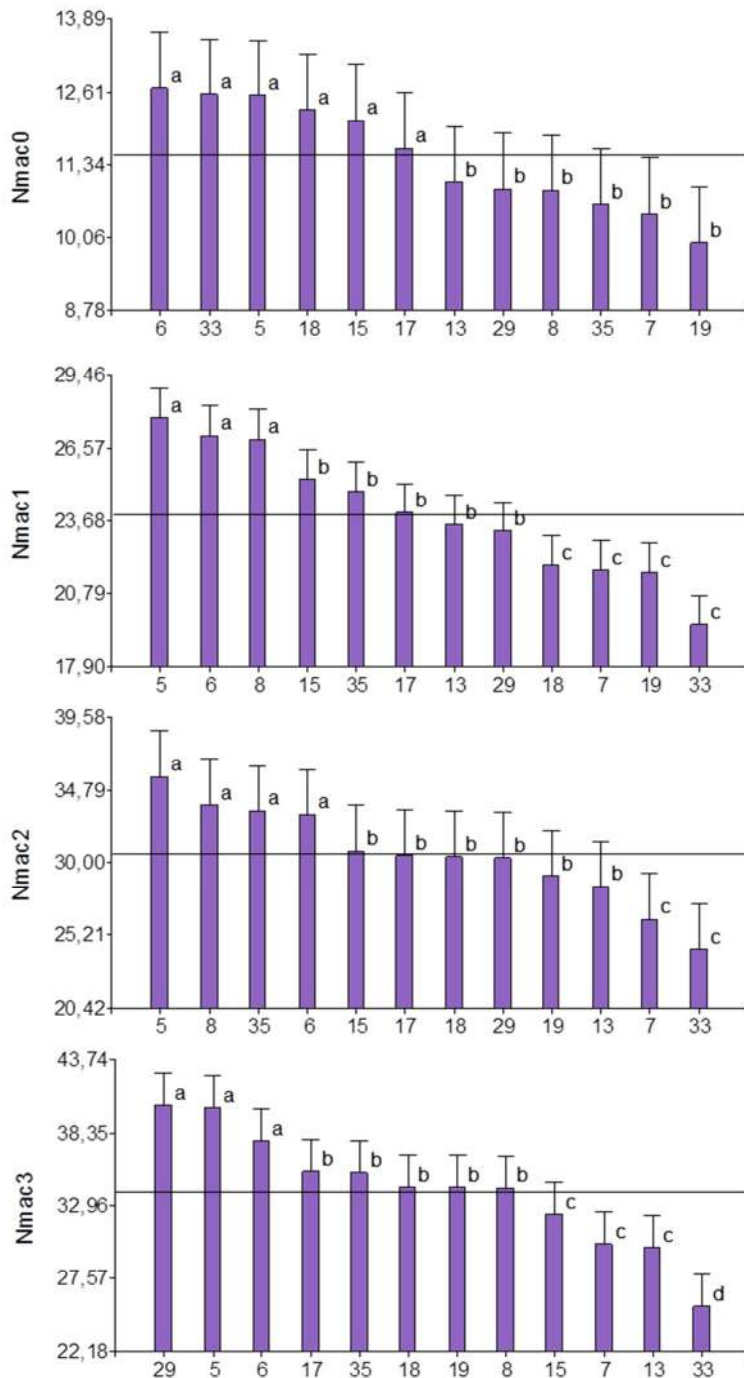
**Figura 4.2:** Altura (Alt) promedio en cm y error estándar (E.E en barras) en cm por planta para todas las FMH en los cuatro ambientes para las cuatro fechas de medición en días (d) desde aplicados los tratamientos. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

El **número de macollos** promedio para todas las FMH (Figura 4.3), fue significativamente superior para el ambiente control en todas las fechas de medición a excepción de la primera. Para el resto de los ambientes, el Nmac1, Nmac2 y Nmac3 no presentó diferencias significativas (Tabla 4.4).



**Figura 4.3:** Número de macollos (Nmac) promedio y error estándar (E.E en barras) en cm para todas las FMH en los cuatro ambientes para las cuatro fechas de medición en días (d) desde aplicados los tratamientos. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

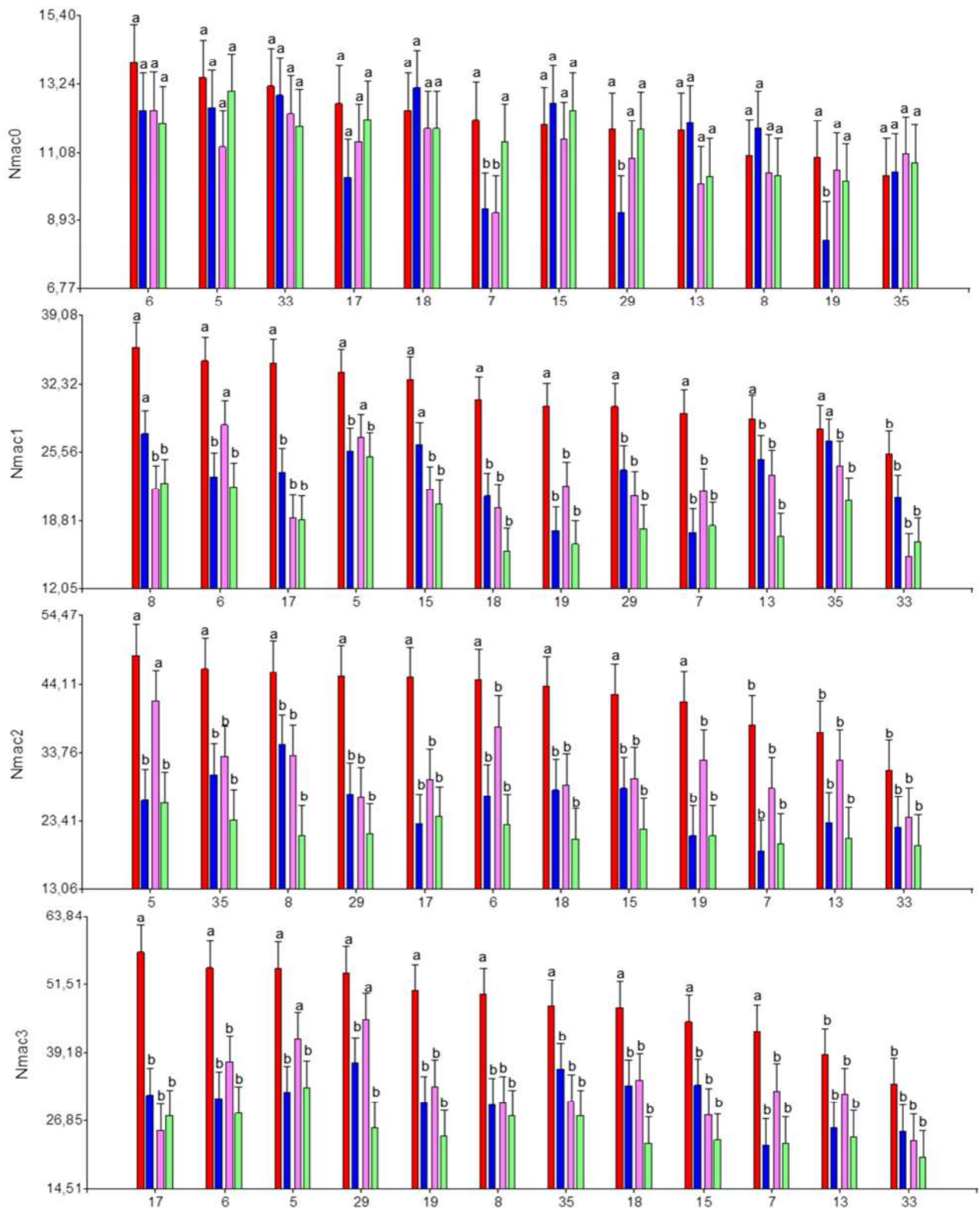
La tasa de aparición de macollos, representada por la pendiente en la figura 4.2, fue positiva para todos los ambientes, con el mayor valor para los ambientes control y salino hasta los 80 días, a partir de esta fecha disminuye fuertemente en el ambiente salino. Asimismo, en la Figura 4.4, se observó la media por FMH para cada fecha de medición.



**Figura 4.4:** Número de macollos (Nmac) promedio y error estándar (E.E en barras) para las 12 FMH, la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

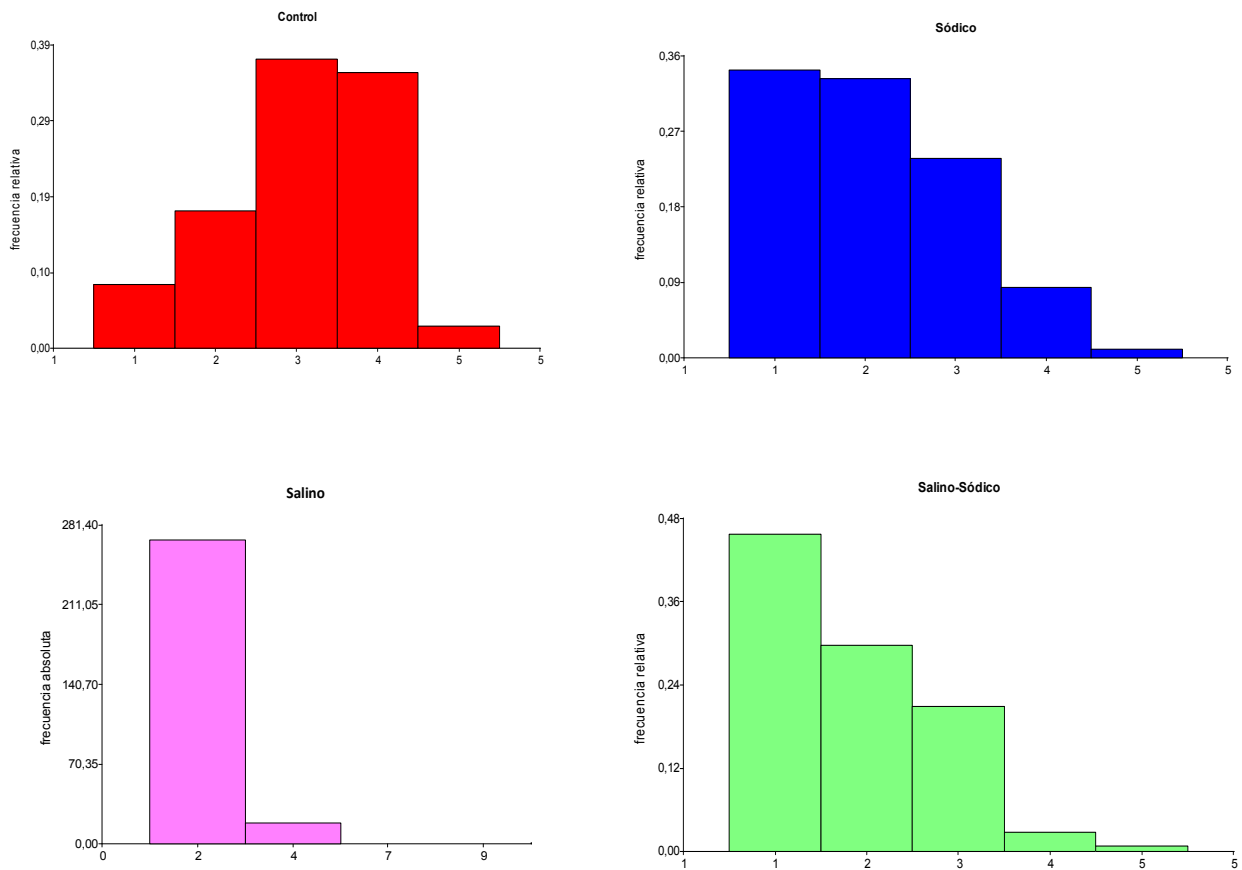
En términos generales las FMH 5, 6 y 8 fueron las que mayor número de macollos presentaron a través del tiempo; mientras que la FMH 7 logró el menor y la FMH 33 solo se destacó para la primera fecha de recuento, en el resto de las fechas fue la de menor valor.

Para las cuatro fechas de medición hubo IGA (Figura 4.5). Para el Nmac0 la interacción fue significativa en las FMH 7, 19 y 29 con una reducción del número de macollos en el ambiente sódico; la FMH 7 también redujo en el salino. Para el Nmac1, la IGA fue significativo para las FMH 6, 5, 8, 15 y 35, algunas (8, 15, 35) mostraron comportamiento similar en control y sódico, y otras (6 y 5) en control y salino. La FMH 33 tuvo la menor cantidad de macollos en todos los ambientes. Para el Nmac2, las FMH 7, 13 y 33 fueron las de menor crecimiento en todos los ambientes. En tanto que para el Nmac3 las FMH 5 y 29 fueron similares en control y en salino, y las FMH 13 y 33 redujeron su crecimiento en todos los ambientes.



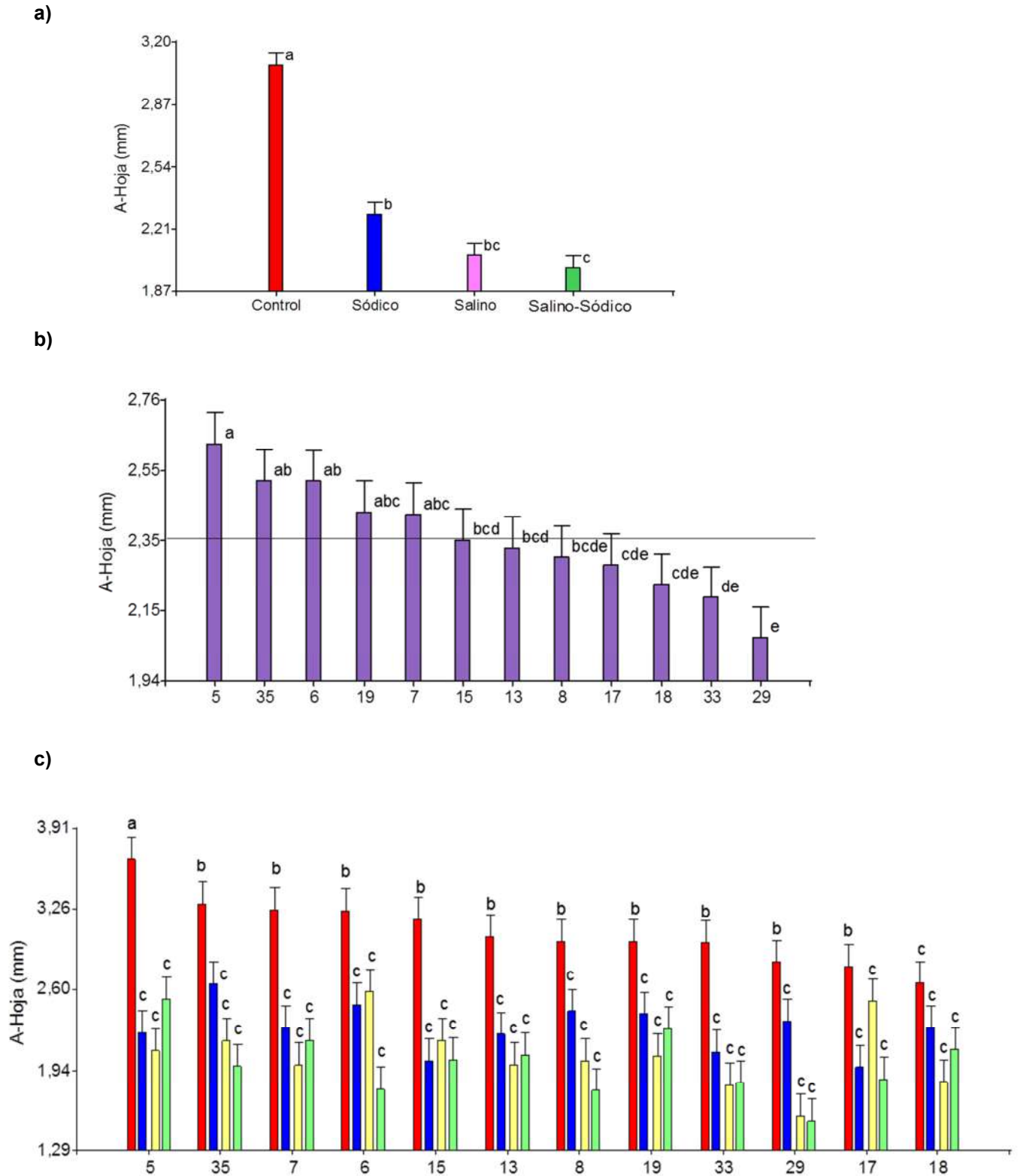
**Figura 4.5:** Número de macollos (Nmac) promedio y error estándar (E.E. en barras) para la interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )*

Las FMH variaron su **hábito de crecimiento (HC)** en función del ambiente (Figura 4.6). En el control, la distribución de frecuencias fue normal, con mayor proporción del HC intermedio y semi-erecto. En el ambiente sódico y en el salino-sódico predominó el HC postrado, semi-postrado e intermedio. Mientras que en el salino predominaron las formas semi-postradas.



**Figura 4.6:** Distribución de la frecuencia relativa para el hábito de crecimiento con escala 1: postrado, 2: semi-postrado, 3- intermedio, 4: semi-erecto y 5: erecto, para las 288 plantas por ambiente.

Para el **ancho de hoja (A-Hoja)** logrado por las FMH (Figura 4.7) en el ambiente control fue el que mayor valor presentó seguido por el sódico y el salino, mientras que el menor valor fue para el ambiente salino-sódico (Foto 4.3). Las FMH con los mayores valores fueron la 5, 6 y 35, mientras que los menores valores fueron para las FMH 29 y 33. Este carácter presentó IGA, por ejemplo, la FMH 5 fue la de mayor valor por presentar el mayor A-Hoja en el ambiente control, mientras que la FMH 18 presentó el mismo A-Hoja para los cuatro ambientes.

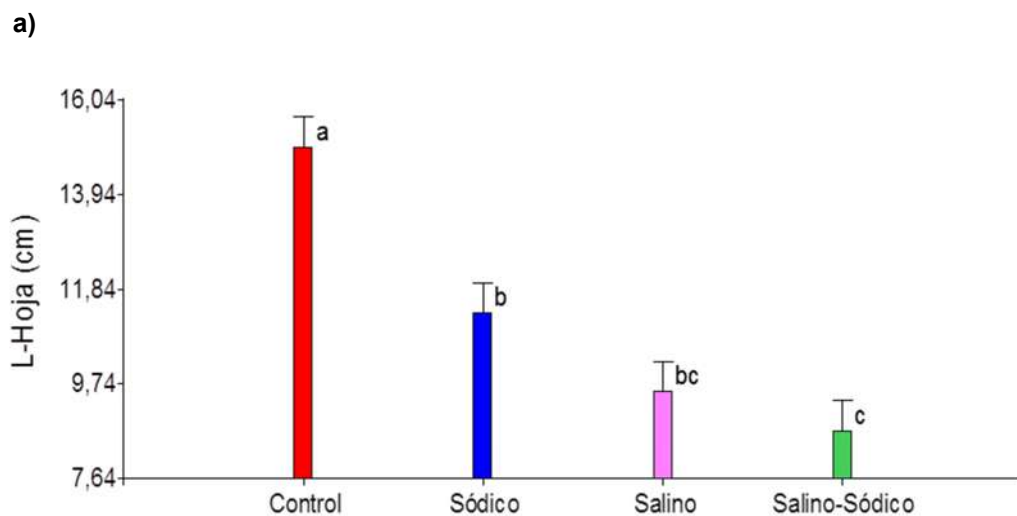


**Figura 4.7:** Ancho de hoja (A-Hoja) promedio en mm y error estándar (E.E en barras) para a) los cuatro ambientes, b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media; y c) la interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )*

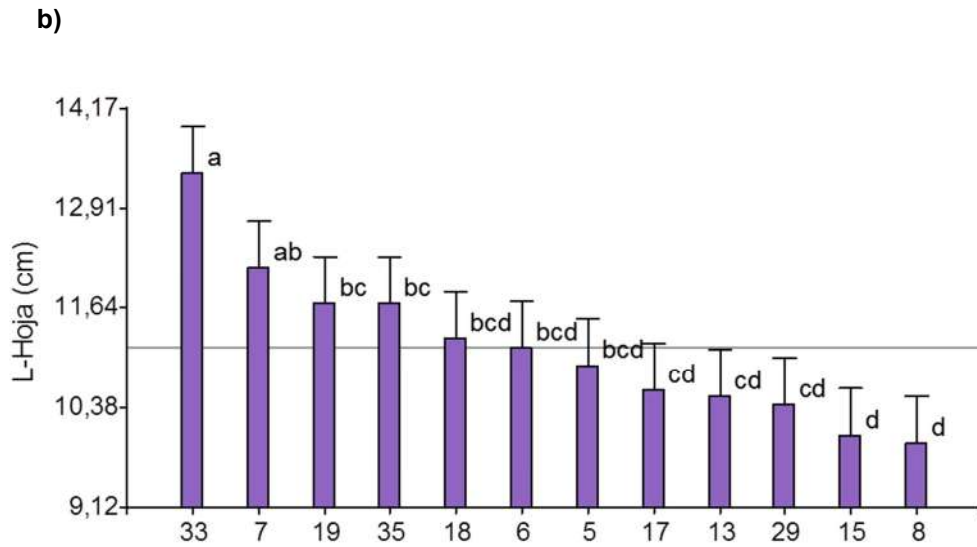


**Foto 4.5:** Ancho de hoja representativo para los cuatro ambientes.

El **largo de hoja (L-Hoja)** presentó el mismo comportamiento por tratamiento que el explicado para el A-Hoja. Las FMH con los mayores valores fueron la 33 y 7, mientras que los menores valores L-Hoja fueron para las FMH 8 y 15 (Figura 4.8), este carácter no presentó IGA significativa.

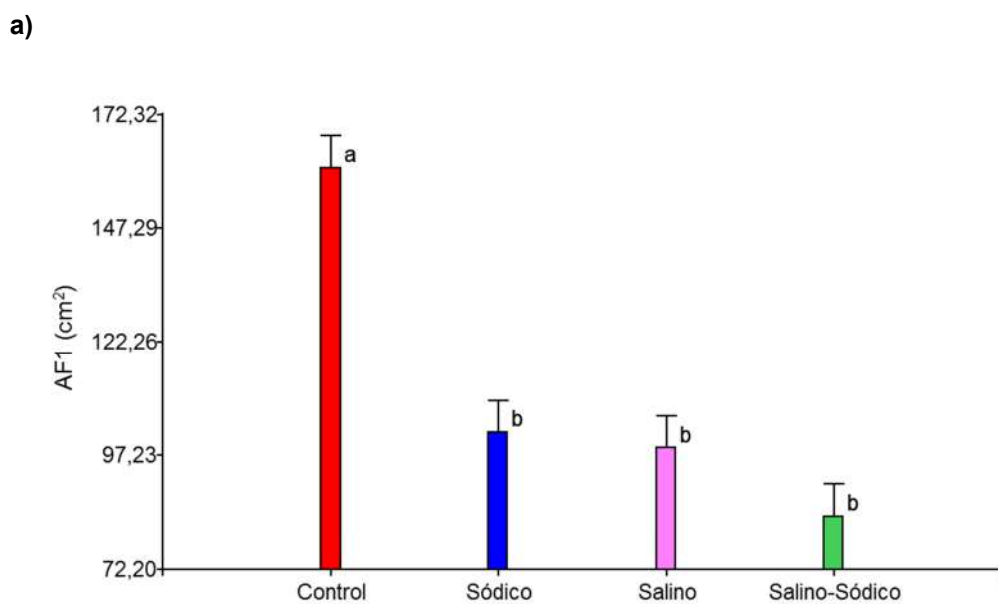


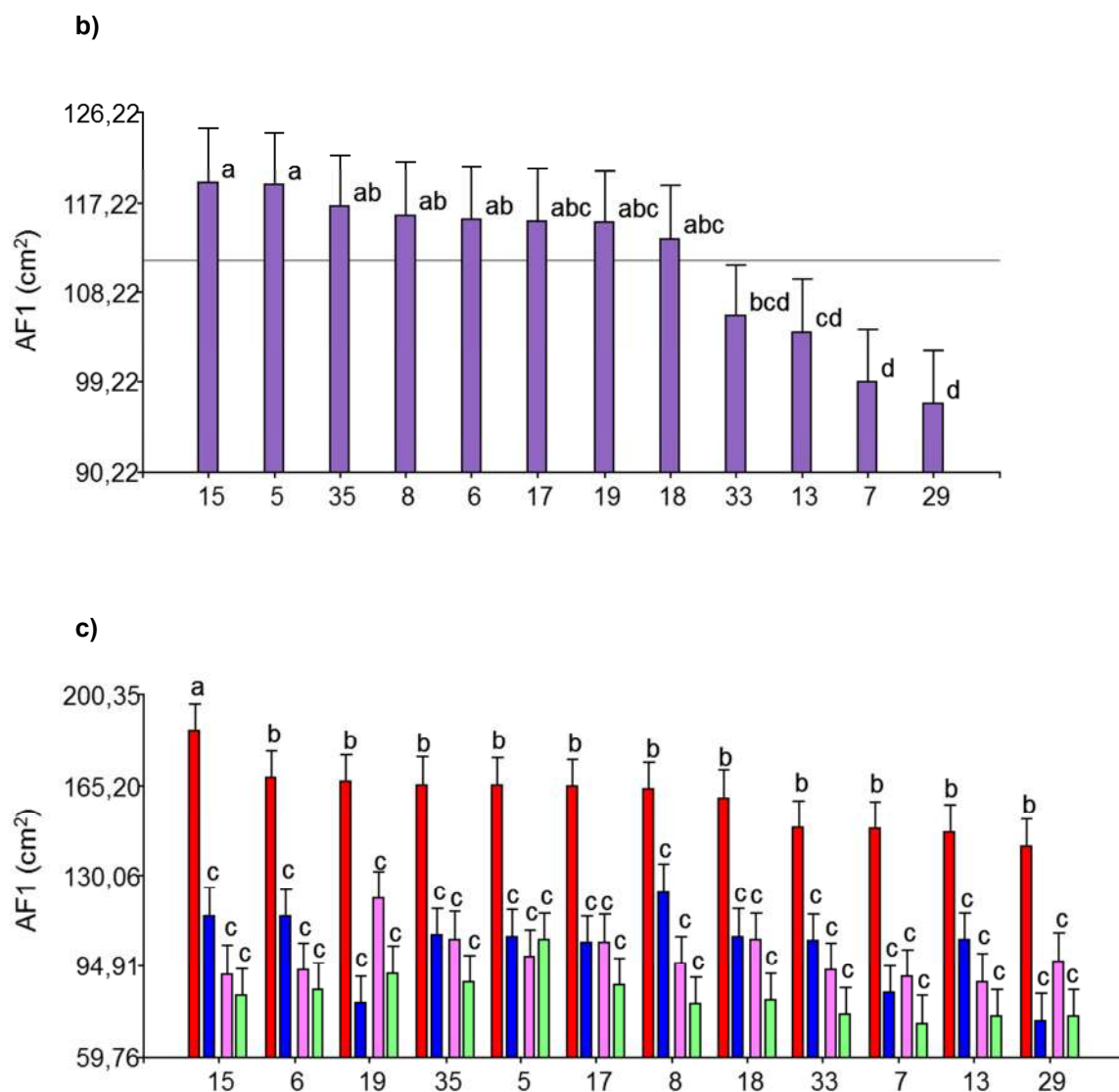




**Figura 4.8:** Largo de hoja (L-Hoja) promedio en cm y error estándar (E. E. en barras) para a) los cuatro ambientes y b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

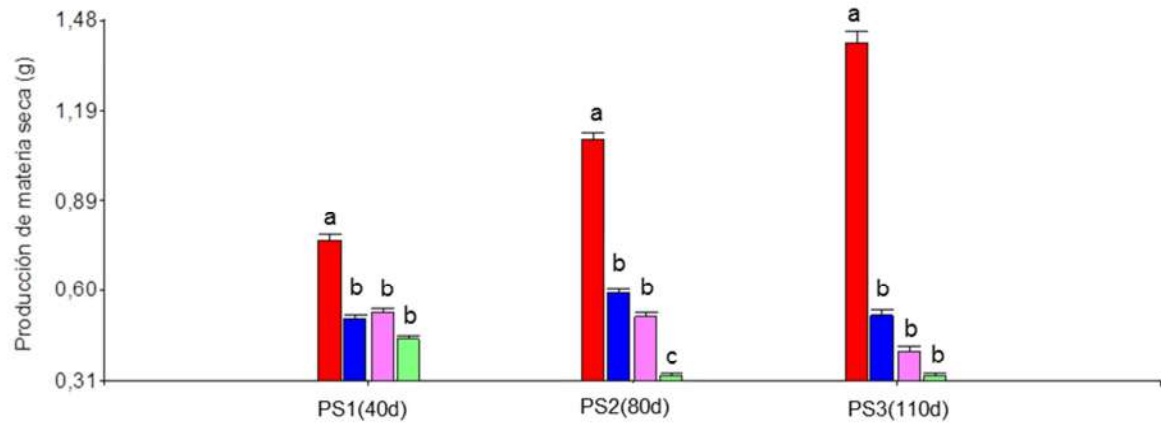
Las FMH presentaron un **área foliar (AF1) por planta** superior en el control y muy reducido en los ambientes halomórficos. Las FMH 5, 15 y 35 fueron las que mayor AF1 presentaron y las FMH 7 y 29 las de menor valor; este carácter evidenció IGA significativa, dada principalmente por la FMH 15, que fue el mayor valor para el ambiente control respecto del resto de las interacciones (Figura 4.9).



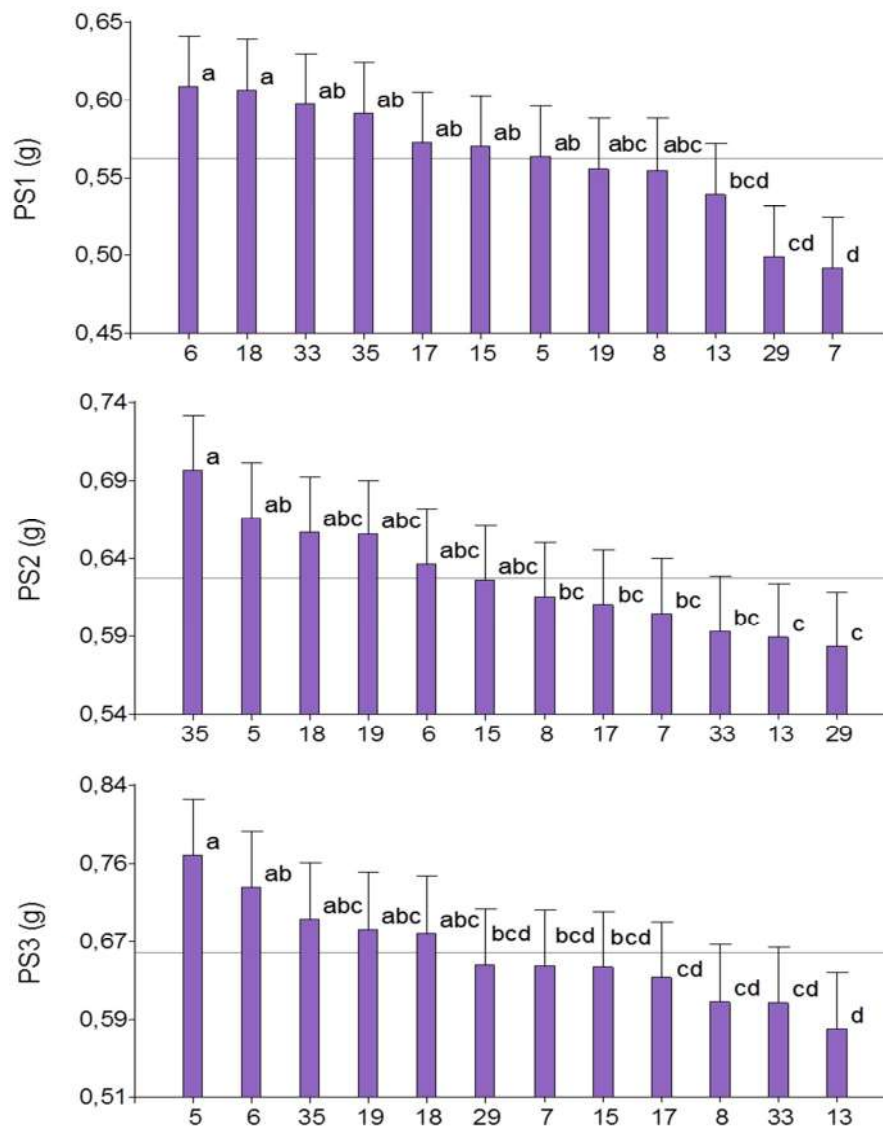


**Figura 4.9:** Área foliar (AF1) promedio en cm y error estándar (E.E en barras) para a) los cuatro ambientes, b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media; y c) la interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )*

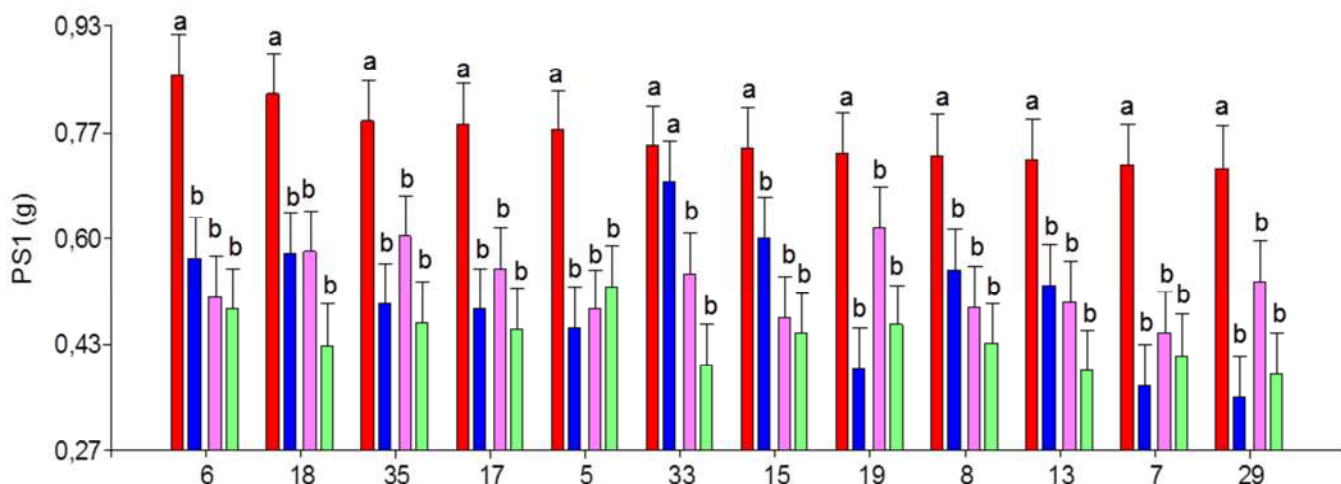
La **producción de materia seca (PS)** promedio de las FMH por ambiente en las tres fechas de corte (Figura 4.10) evidenció menor crecimiento en los ambientes halomórficos respecto del control. En la segunda fecha (PS2) la reducción fue máxima en el salino-sódico y en la última fecha (PS3) no se detectaron diferencias entre los tratamientos halomórficos. Cuando se comparó la producción por FMH por ambiente y por corte (Figura 4.11), se detectaron las FMH más productivas (PS1: 6, 18; PS2: 35 y 5; PS3: 5 y 6) y las menos productivas (PS1: 7, 29; PS2: 29, 13; PS3: 13, 33). Cabe destacar que el PS1, fue el único que presentó IGA (Figura 4.12), observándose que la FMH 33 fue la que mayor producción presentó en el ambiente sódico con niveles de crecimiento similares a los del ambiente control.



**Figura 4.10:** Producción de materia seca (PS) promedio en gramos y error estándar (E.E en barras) por ambiente. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*



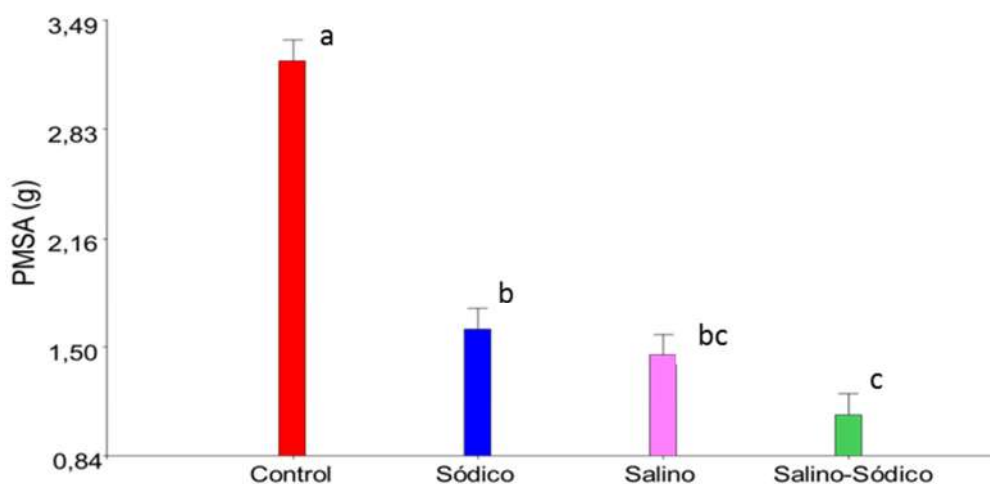
**Figura 4.11:** Producción de materia seca (PS) promedio en gramos y error estándar (E.E. en barras) por FMH, la línea corresponde a la media; para las tres fechas de corte (PS1, PS2, PS3). *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

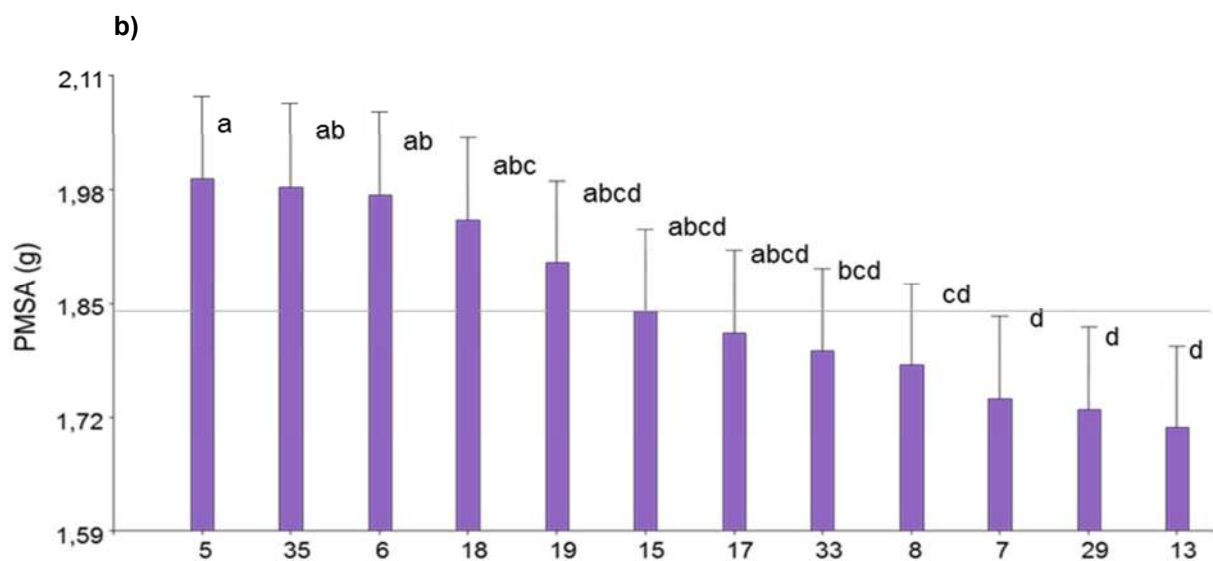


**Figura 4.12:** Peso seco al primer corte (PS1) promedio en gramos y el error estándar (E.E. en barras). Interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )*

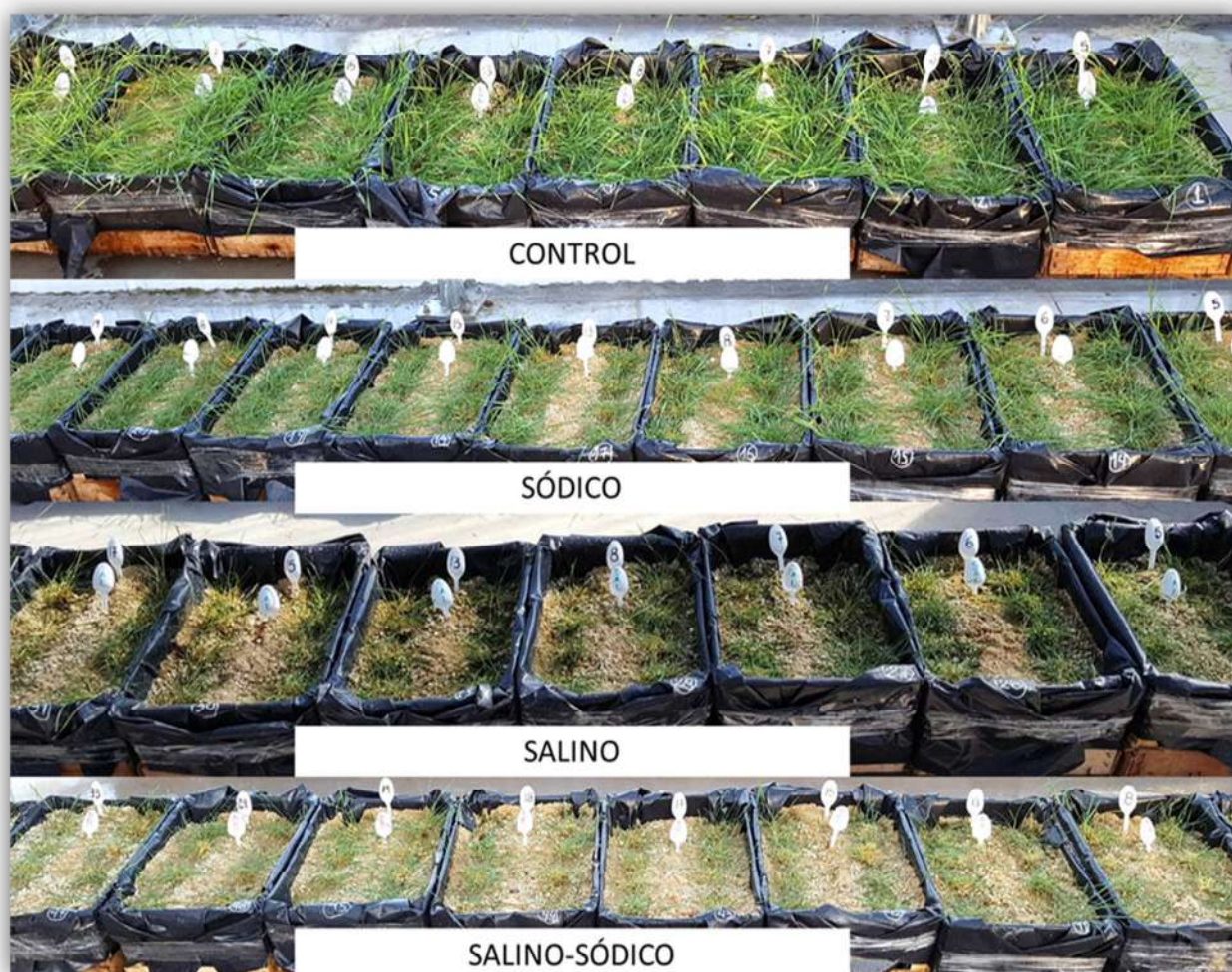
Similarmente a la biomasa de las FMH por corte en las tres fechas, la **producción de materia seca acumulada (PMSA)** se redujo significativamente en los ambientes halomórficos respecto del control (Foto 4.6). Entre los halomórficos el salino-sódico produjo mayor disminución de crecimiento. Coincidente con los resultados anteriores, las FMH más productivas fueron 5, 6, 18 y 35, y las menos productivas fueron las FMH 7, 13 y 29 (Figura 4.13). No se observó IGA significativa.

a)





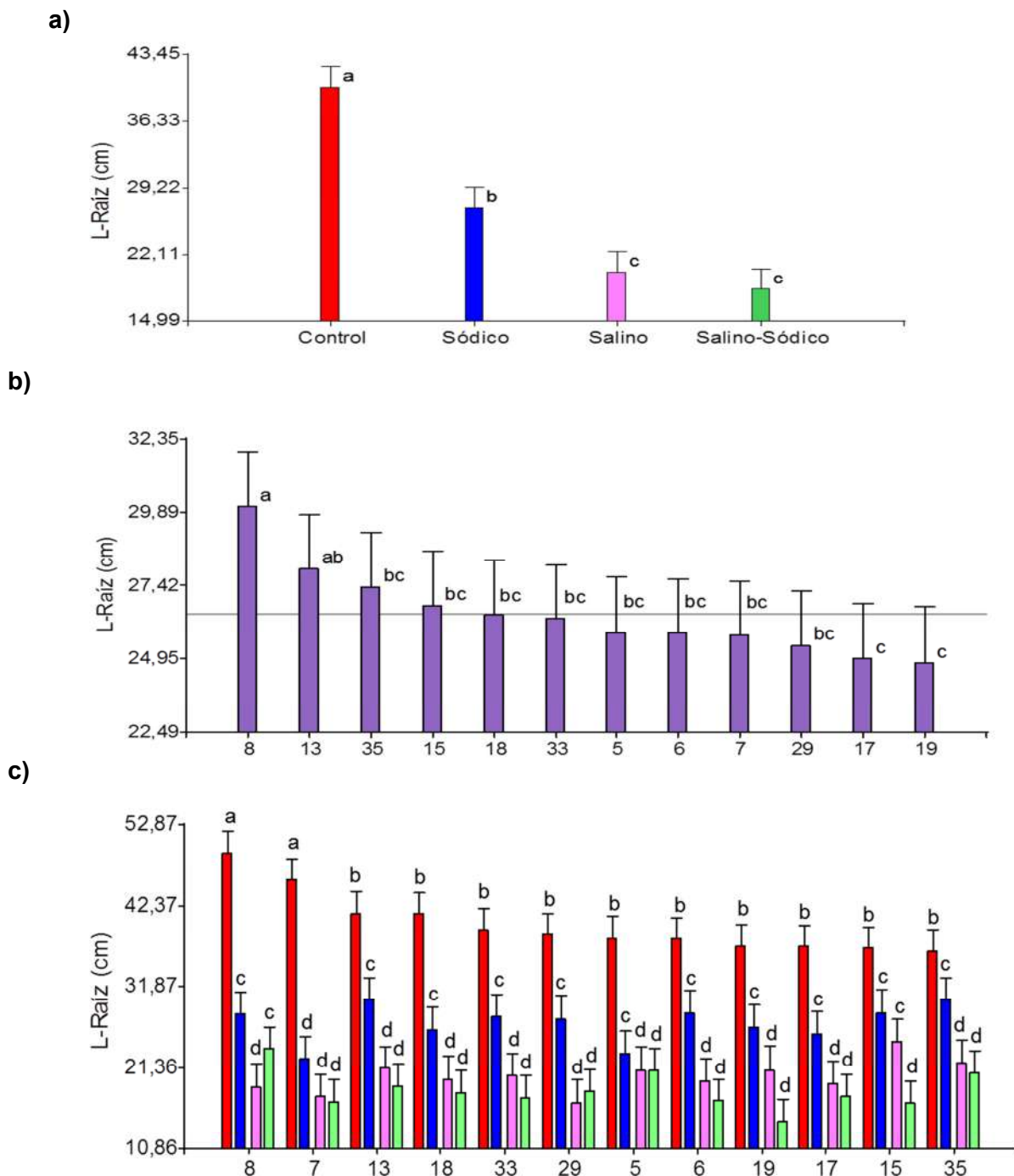
**Figura 4.13:** Producción de materia seca acumulada (PMSA) promedio en gramos y error estándar (E.E. en barras) para a) los cuatro ambientes y b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Foto 4.6:** Ensayo dispuesto en invernáculo, FMH en cajones para cada ambiente.



El **largo de raíces** (L-Raíz) promedio de las FMH mostró reducción del crecimiento en los ambientes halomórficos, en particular en el salino-sódico. Las FMH 8 y 13 alcanzaron la mayor longitud y las 17 y 19 la menor. Este carácter presentó IGA para todas las FMH (Figura 4.14).



**Figura 4.14:** Largo de raíz (L-Raíz) promedio en cm y error estándar (E.E. en barras) para a) los cuatro ambientes, b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media; y c) la interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )*

## 2. Efecto del halomorfismo en las FMH: Caracteres Fisiológicos

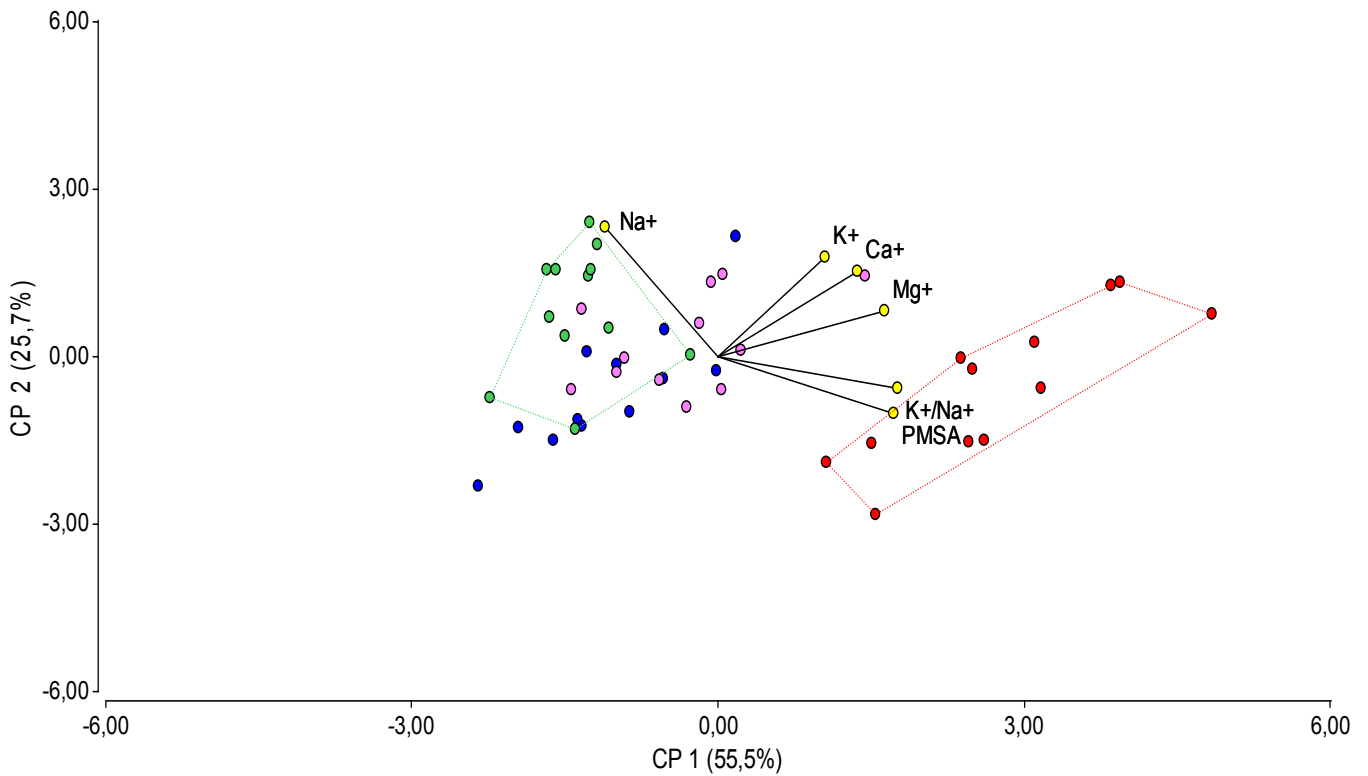
### 2.1 Acumulación de iones: $\text{Ca}^+$ , $\text{Mg}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+/\text{Na}^+$

En el Tabla 4.5 se observa de manera descriptiva la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el valor p del efecto ambiente, del efecto FMH y de la IGA, para el contenido de iones (nmoles/mg peso seco) y la relación potasio/sodio ( $\text{K}^+/\text{Na}^+$ ), para las 12 FMH en los cuatro ambientes. A excepción del  $\text{K}^+$ , todos presentaron efecto de ambiente ( $p < 0,05$ ), mientras que solamente los iones  $\text{Mg}^+$  y la relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  presentaron significancia a nivel de FMH ( $p < 0,05$ ). En cuanto a la interacción entre ambos factores (IGA), solamente el  $\text{K}^+$  y la relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  presentaron IGA significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.5** Comportamiento promedio de las 12 FMH y los cuatro ambientes para el contenido de iones Calcio ( $\text{Ca}^+$ ), Magnesio ( $\text{Mg}^+$ ), Potasio ( $\text{K}^+$ ) y Sodio ( $\text{Na}^+$ ) y la relación Potasio/Sodio ( $\text{K}^+/\text{Na}^+$ ). Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo (Mín), máximo (Máx), valor p de los efectos ambiente, FMH y su interacción (IGA).

ION (nmoles/mgPS)	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Valor p		
						Ambiente	FMH	IGA
$\text{Ca}^+$	3,23	1,96	60,64	0,00	13,43	0,0136	0,3108	0,5272
$\text{Mg}^+$	10,25	5,25	51,20	1,76	37,80	0,0102	0,0468	0,3134
$\text{K}^+$	178,20	73,57	41,28	29,05	513,58	0,1425	0,1842	0,0334
$\text{Na}^+$	195,63	84,70	43,29	61,50	466,21	0,0049	0,4639	0,2830
$\text{K}^+/\text{Na}^+$	1,02	0,47	45,99	0,26	2,58	0,0001	0,0003	0,0247

El biplot (Figura 4.15) del análisis de componentes principales considerando los iones evaluados, la PMSA para los cuatro ambientes y las 12 FMH, muestra que las dos componentes explican el 81% del total de la variabilidad (CP1: 55%; CP2: 26%) y los caracteres que más aportaron a la variabilidad fueron  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  y PMSA para la CP1 y  $\text{Na}^+$  para la CP2. También se observó el agrupamiento de las 12 FMH por ambiente, distinguiéndose el control (hacia la derecha) del salino-sódico (hacia la izquierda), y otros dos dispersos entre los ambientes halomórficos.

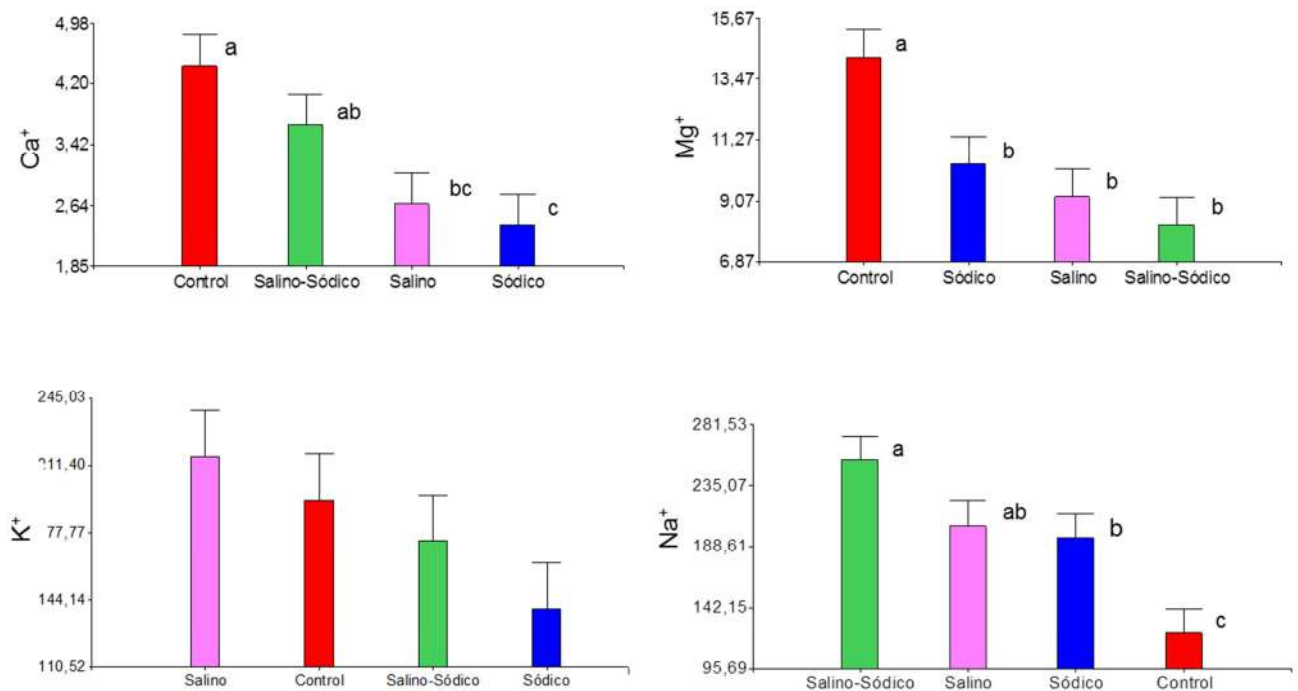


**Figura 4.15:** Análisis de componentes principales para los cuatro ambientes y las 12 FMH considerando los iones Sodio ( $\text{Na}^+$ ), Calcio ( $\text{Ca}^+$ ), Magnesio ( $\text{Mg}^+$ ), Potasio ( $\text{K}^+$ ), relación Potasio/Sodio ( $\text{K}^+/\text{Na}^+$ ) y peso de materia seca acumulada (PMSA).

En la Figura 4.16 se representó la media y error estándar para cada ion en los cuatro ambientes. Los iones  $\text{Ca}^+$  y  $\text{Mg}^+$  presentaron concentraciones significativamente superiores en el ambiente control, mientras que para el  $\text{Ca}^+$  el menor valor se observó en el ambiente sódico, para el  $\text{Mg}^+$  no hubo diferencias entre los ambientes halomorficos. Si bien para el  $\text{K}^+$  no hubo diferencias significativas entre los ambientes, hubo una tendencia a que la mayor concentración fue en el ambiente salino y la menor concentración en el ambiente salino-sódico. Para el ion  $\text{Na}^+$  la mayor concentración se observó en el ambiente salino-sódico y la menor en el ambiente control, los otros dos ambientes presentaron concentraciones intermedias.

Las FMH (Figura 4.17) mostraron diferencias significativas sólo en la concentración del ion  $\text{Mg}^+$ , siendo las FMH 15 y 18 las de mayor valor y las FMH 13, 17 y 35 las de menor. Cabe destacar la tendencia de la FMH 33 para los iones  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ , con valores por encima y por debajo de la media, respectivamente; mientras que la tendencia de la FMH 7 fue inversa presentando una menor cantidad de  $\text{K}^+$  y una mayor cantidad de contenido de  $\text{Na}^+$ .

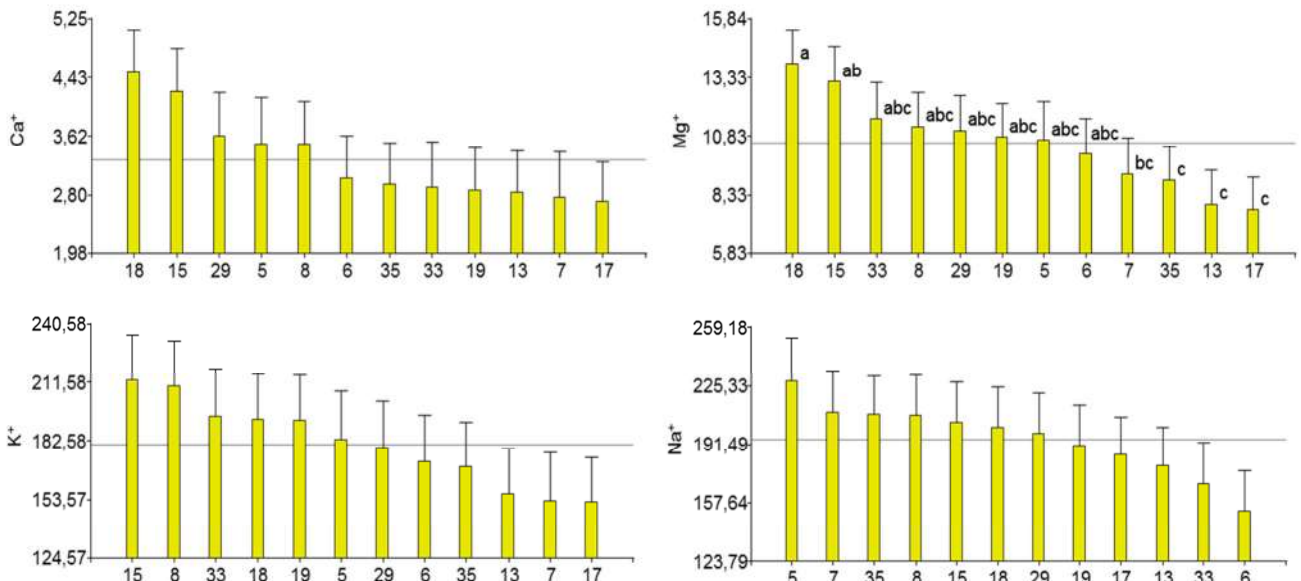




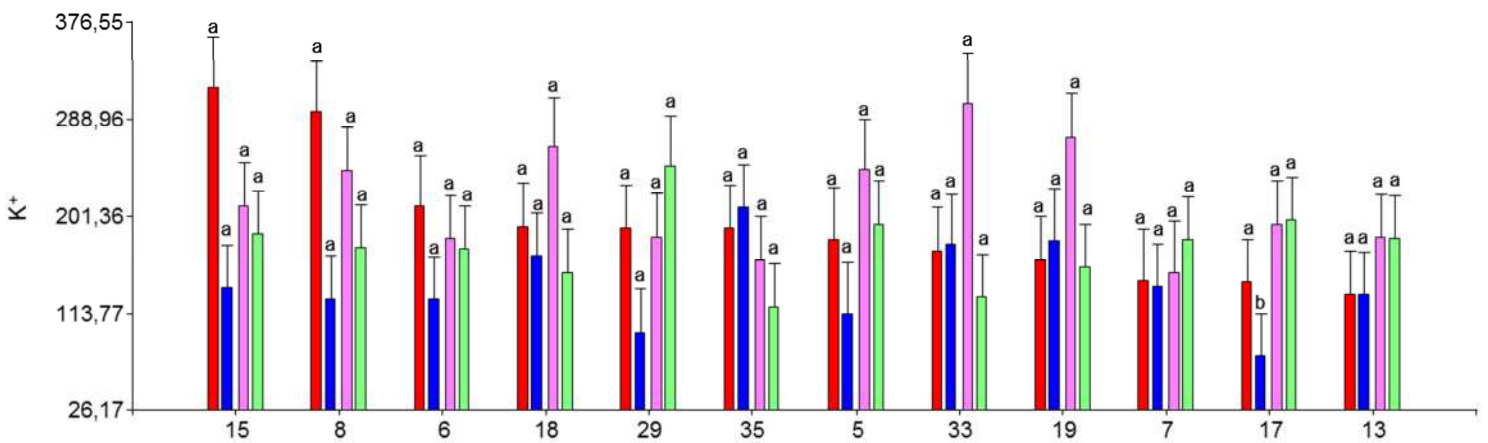
**Figura 4.16:** Concentración de iones (nmoles/mg ps) promedio y error estándar (E.E. en barras) para cada ambiente. Calcio (Ca<sup>+</sup>), magnesio (Mg<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>). Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.

Las FMH 6, 8, 15 y 18 mostraron los mayores valores del ión K<sup>+</sup> para la IGA (Figura 4.18), mientras que las FMH 7, 13 y 17 fueron las que menor concentración demostraron, la FMH 17 presentó interacción con el menor valor de K<sup>+</sup> en el ambiente sódico.

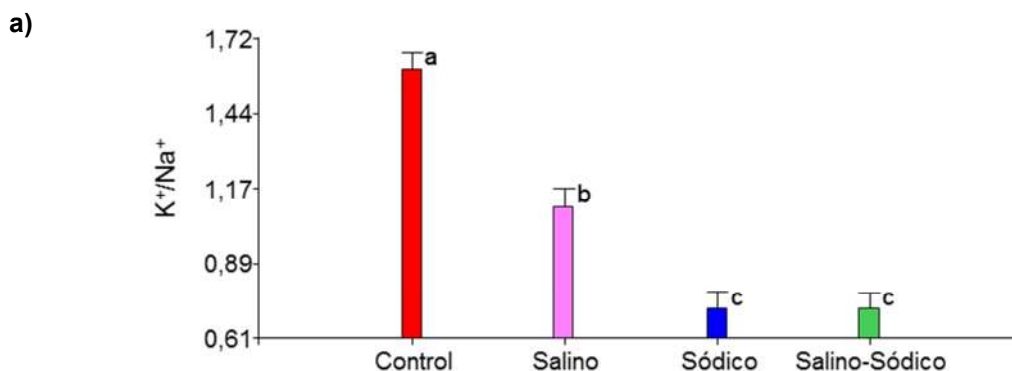
En términos generales la relación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> fue mayor en el tratamiento control, seguido por el salino y en última instancia los ambientes sódico y salino-sódico (Figura 4.19). En cuanto al efecto FMH, la FMH 6 fue la que mayor relación presentó seguido de la 33, 15 y 18, las que menos valor de la relación presentaron fueron la 5, 7, 13 y 35, el resto se comportó de manera intermedia. Sin embargo, se observó el comportamiento de las FMH en los distintos ambientes, a través de la interacción. Las FMH, que presentaron interacción y con los mayores valores en control y salino fueron la 6, 15, 17, 18, 19 y 33. Las FMH 5, 7, 13, 29 y 35, presentaron los menores valores en todos los ambientes halomórficos.



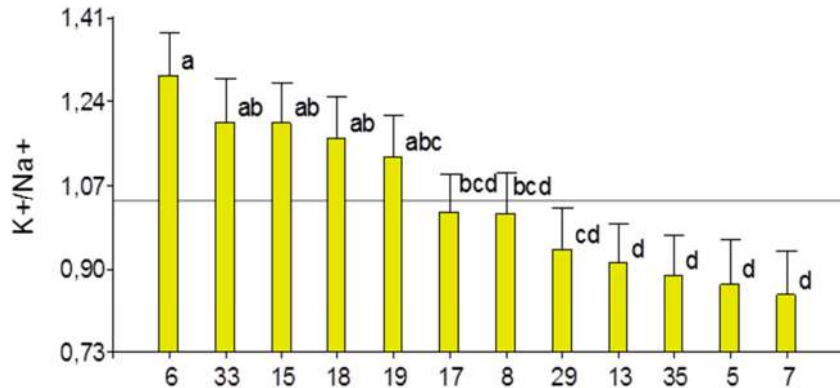
**Figura 4.17:** Concentración de iones (nmoles/mg ps) promedio y error estándar (E.E. en barras) para las 12 FMH. Calcio (Ca<sup>+</sup>), magnesio (Mg<sup>+</sup>), potasio (K<sup>+</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>). Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.



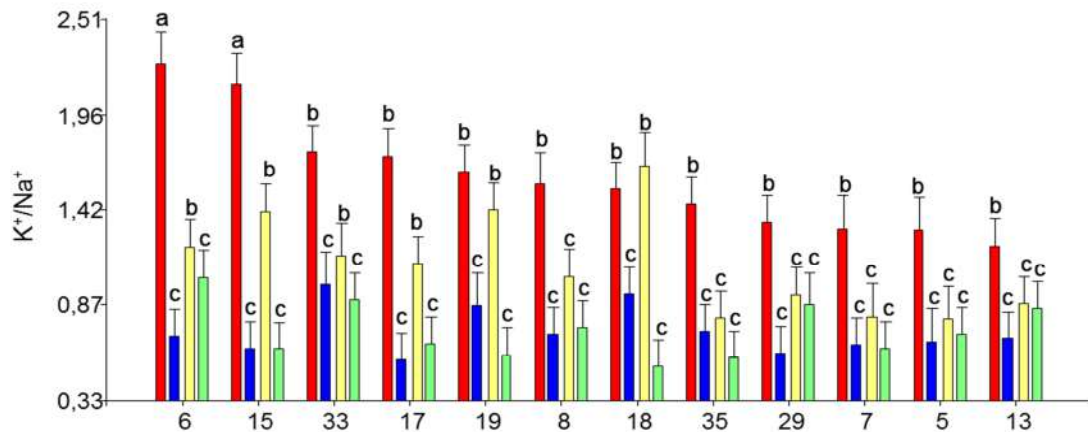
**Figura 4.18:** Concentración de potasio (K<sup>+</sup>) en nmoles/mg ps, interacción para las 12 FMH y los cuatro ambientes. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



b)



c)



**Figura 4.19:** Relación  $K^+/Na^+$  promedio y error estándar (E.E. en barras) para a) los cuatro ambientes, b) las 12 FMH, la línea corresponde a la media; y c) interacción para las 12 FMH en los cuatro ambientes. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

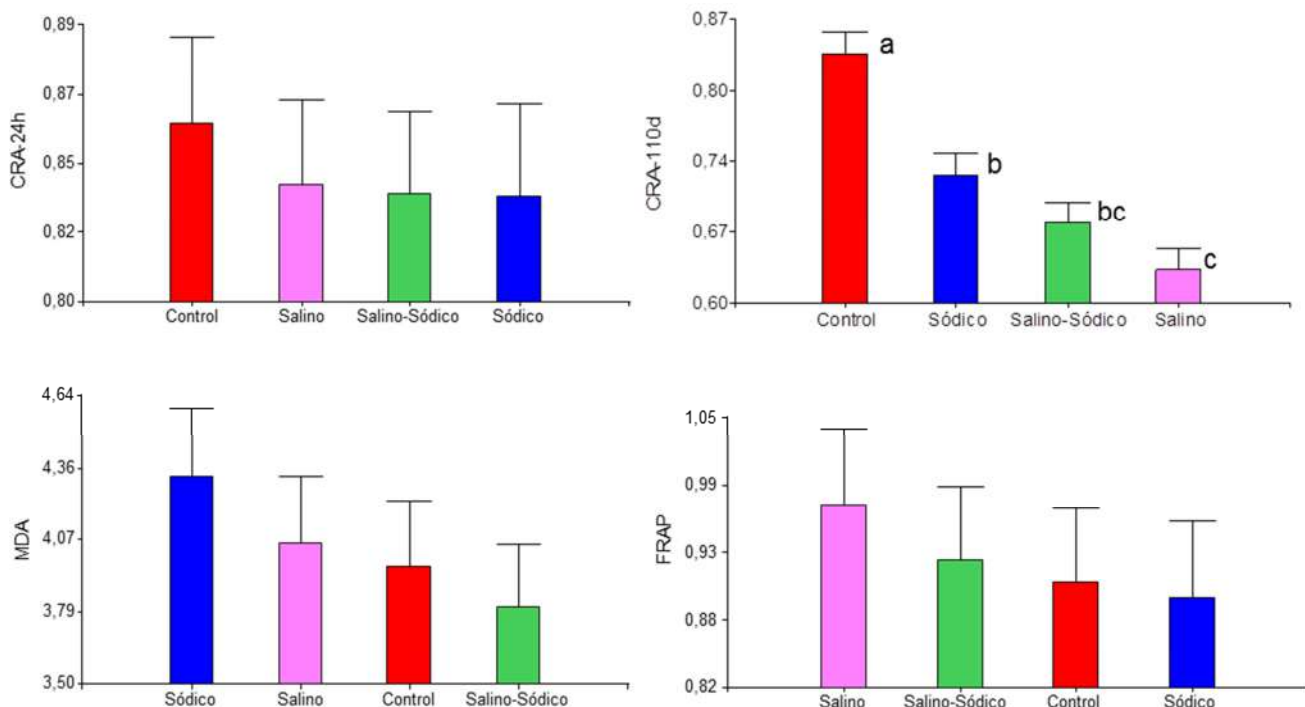
## 2.2 Determinación de CRA, MDA y FRAP

En el Tabla 4.6 se observa de manera descriptiva la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el valor p del efecto ambiente, del efecto de la FMH y de la IGA, para el contenido relativo de agua (CRA) a las 24h de aplicado los tratamientos (CRA-24h) y a los 110 días (CRA-110d), el contenido de malondialdehído (MDA) en nmoles/g peso fresco, el contenido de reducción férrica de la capacidad del plasma (FRAP) en  $\mu$ moles/g de peso fresco. Para el CRA-24h hubo efecto de FMH y para el CRA-110d hubo efecto de ambiente y de FMH ( $p < 0,05$ ), en tanto que para el MDA hubo efecto de FMH y de IGA entre los ambientes y las FMH, mientras que el FRAP no presentó efecto de ningún tipo.

**Tabla 4.6** Comportamiento promedio de las 12 FMH y los cuatro ambientes para el Contenido Relativo de Agua (CRA) a las 24h y a los 110 días, contenido de Malondialdehido (MDA) y Reducción férrica de la Capacidad del Plasma (FRAP). Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo (Mín), máximo (Máx), valor p de los efectos ambiente, FMH y su interacción (IGA).

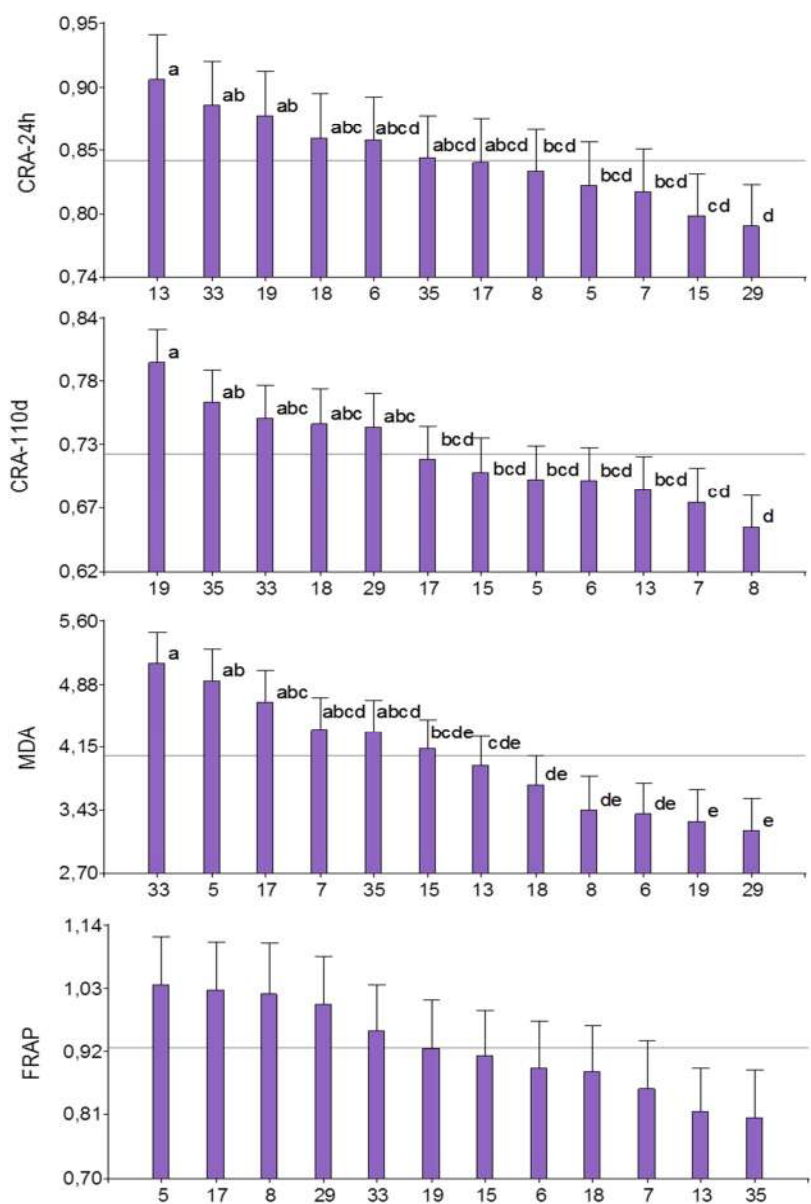
Caracter	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Valor p		
						Ambiente	FMH	IGA
CRA-24hs	0,84	0,17	19,97	-0,03	2,20	0,7212	0,0335	0,7759
CRA-110d	0,72	0,19	25,92	0,23	2,67	0,0017	0,0149	0,1542
MDA (nmoles/gPF)	4,03	1,35	33,53	1,06	9,74	0,5739	0,0006	0,0018
FRAP (µmoles/gPF)	0,92	0,23	24,45	0,43	1,43	0,5734	0,1794	0,2752

En la Figura 4.20 se observa la media de cada ambiente para los caracteres mencionados. Para el CRA-24h no hubo diferencias significativas, sin embargo, el ambiente control presentó el mayor valor, en tanto para el CRA-110d, sí hubo diferencias ( $p < 0,05$ ) siendo el ambiente control el de mayor CRA-110d seguido por el ambiente sódico, el ambiente salino fue intermedio entre el sódico y el salino-sódico. Para el MDA si bien no hubo diferencias significativas, el ambiente sódico presentó el mayor valor. Para el FRAP, tampoco hubo diferencias significativas, el mayor valor fue para el ambiente salino.



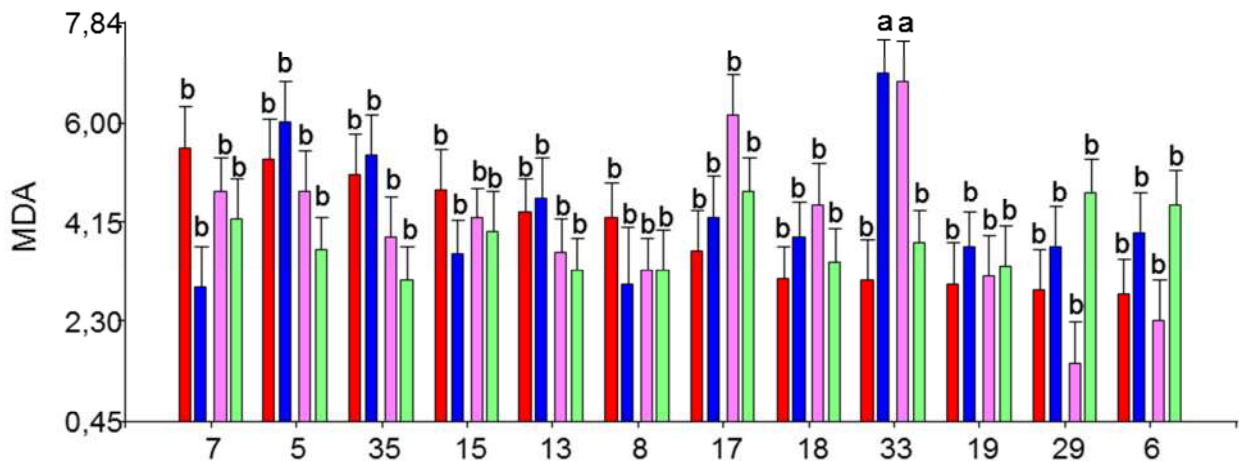
**Figura 4.20:** Media y error estándar (en barras) para los cuatro ambientes para Contenido Relativo de Agua (CRA) a las 24h (CRA-24h) y 110 días (CRA-110d), contenido de Malondialdehido (MDA) en nanomoles/gPF y Reducción Férrica de la Capacidad del Plasma (FRAP) en µmoles/gPF. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.

A excepción del FRAP ( $p > 0,05$ ) todas las variables presentaron efecto de FMH ( $p < 0,05$ ), para el CRA a las 24h, los mayores contenidos fueron demostrados por las FMH 13, 19 y 33, mientras que los menores valores fueron para las FMH 15 y 29 (Figura 4.21). En tanto que, para los 110 días, el mayor valor fue para las FMH 18, 19, 29, 33 y 35, mientras que para 7, 8, y 13 los menores valores. Para el MDA los mayores valores lo presentaron las FMH 5, 17 y 33, los menores valores fueron para 6, 8, 18, 19 y 29.



**Figura 4.21:** Media y error estándar (E.E. en barras) para las 12 FMH, para: Contenido Relativo de Agua (CRA) a las 24h (CRA-24h) y 110 días (CRA-110d), Contenido de Malondialdehído (MDA) en nanomoles/gPF y Reducción férrica de la Capacidad del Plasma (FRAP) en  $\mu$ moles/gPF. La línea corresponde a la media. *Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.*

En la figura 4.22 se observa la IGA para el contenido de MDA, la FMH 33 mostró los valores más elevados en el ambiente sódico y salino, es decir que esta FMH presentó la mayor peroxidación lipídica de membrana como señalización de respuesta al estrés a las 24h, a diferencia del resto de las FMH que no demostraron respuesta a través de este parámetro el estrés a las 24h.



**Figura 4.22:** Concentración de malondialdehído en nmoles/mg PF (MDA) promedio y error estándar (E.E en barras) para la interacción entre las 12 FMH y los cuatro ambientes. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

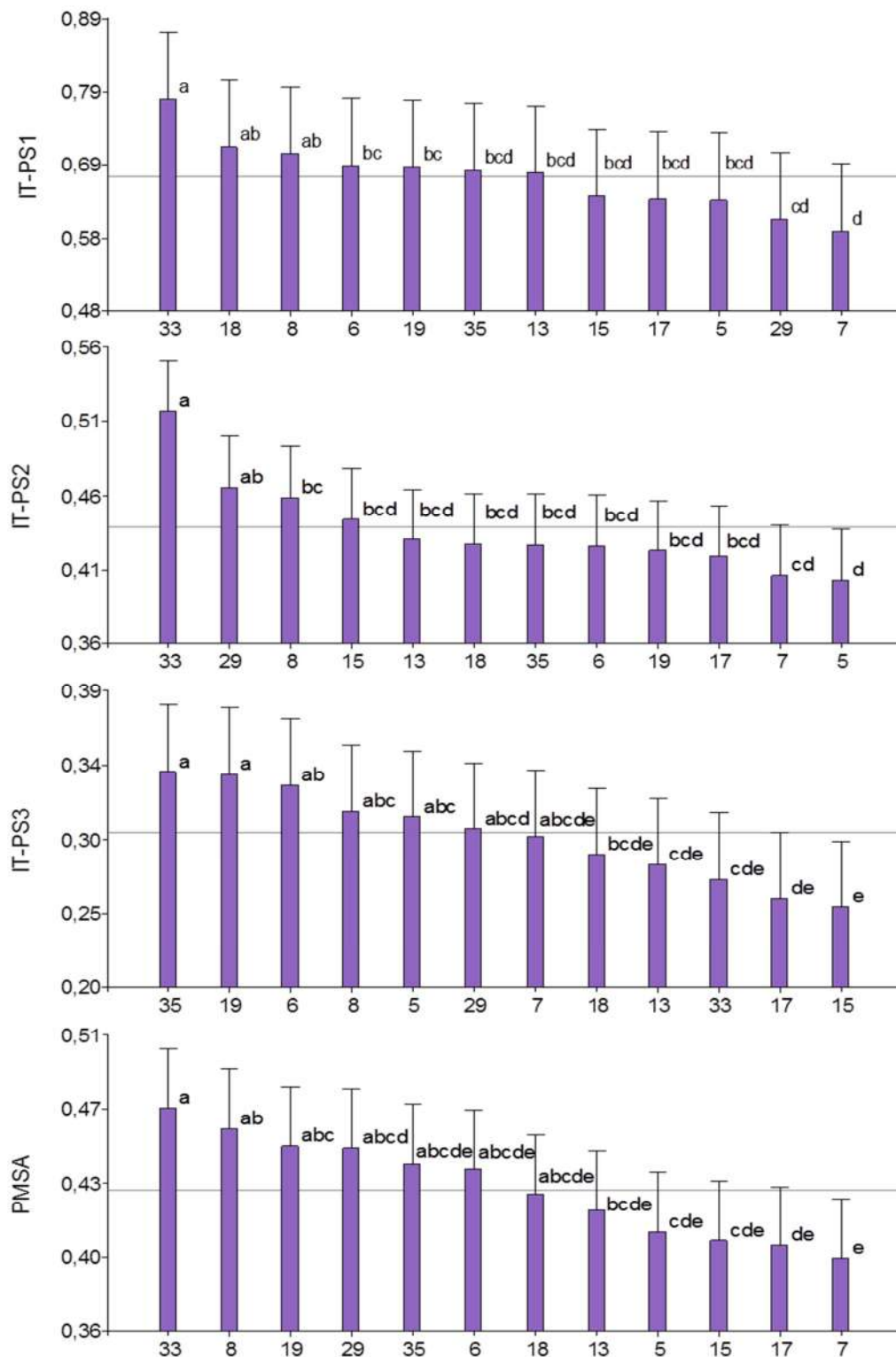
### 2.3 Índice de Tolerancia (IT)

En el Tabla 4.7 se observa de manera descriptiva la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el efecto ambiente, el efecto de la FMH y la IGA, los IT correspondiente a cada corte y al acumulado. Ninguno de los IT presentó efecto del ambiente ( $p > 0,05$ ), todos presentaron efecto de las FMH e IGA significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.7** Comportamiento promedio de las 12 FMH y los cuatro ambientes para el índice de tolerancia (IT), para el primero (IT-PS1), segundo (IT-PS2) y tercer corte (IT-PS3) y para el acumulado de los mismos (IT-PMSA). Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo (Mín), Máximo (Máx), valor p de los efectos ambiente, FMH y su interacción (IGA).

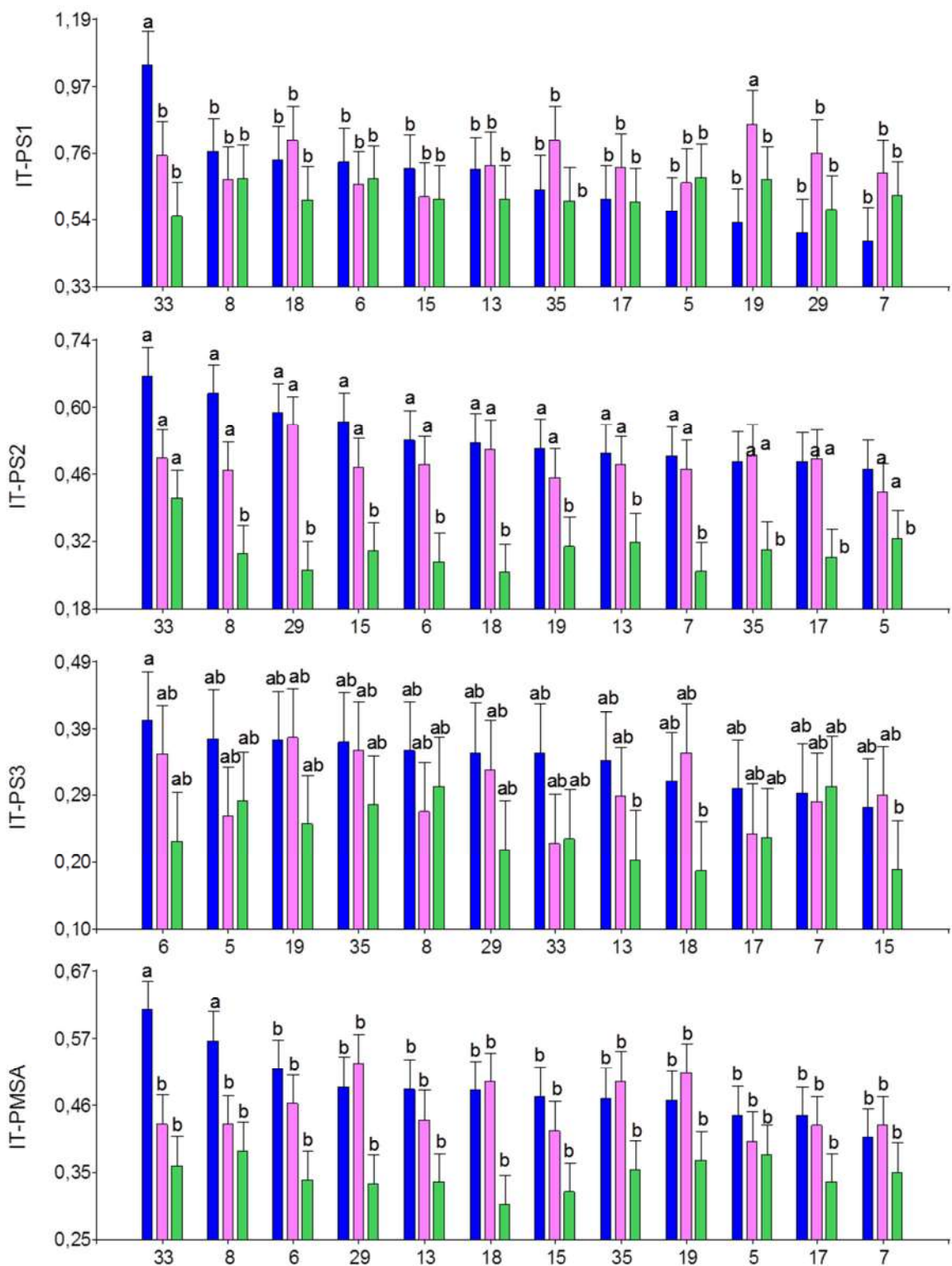
Caracter	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Valor p		
						Ambiente	FMH	IGA
<b>IT-PS1</b>	0,67	0,31	45,64	0,10	2,40	0,1926	0,0073	<0,0001
<b>IT-PS2</b>	0,44	0,21	46,8	0,05	1,26	0,0611	0,0025	0,0499
<b>IT-PS3</b>	0,30	0,17	58,59	0,00	0,98	0,5858	0,0009	0,0037
<b>IT-PMSA</b>	0,43	0,16	38,2	0,07	1,07	0,0865	0,0355	0,0061

Las FMH 33, 8 y 19 (Figura 4.23) mostraron los IT mayores y las FMH 7, 17 y 5 los menores para todas las fechas de corte y el acumulado de materia seca. Existió IGA significativa (Figura 4.24) en las FMH 33, 6 y 19. Cuando se analizó el peso de la materia seca acumulada, se destacaron nuevamente las FMH 33 y 8 por presentar los mayores IT.



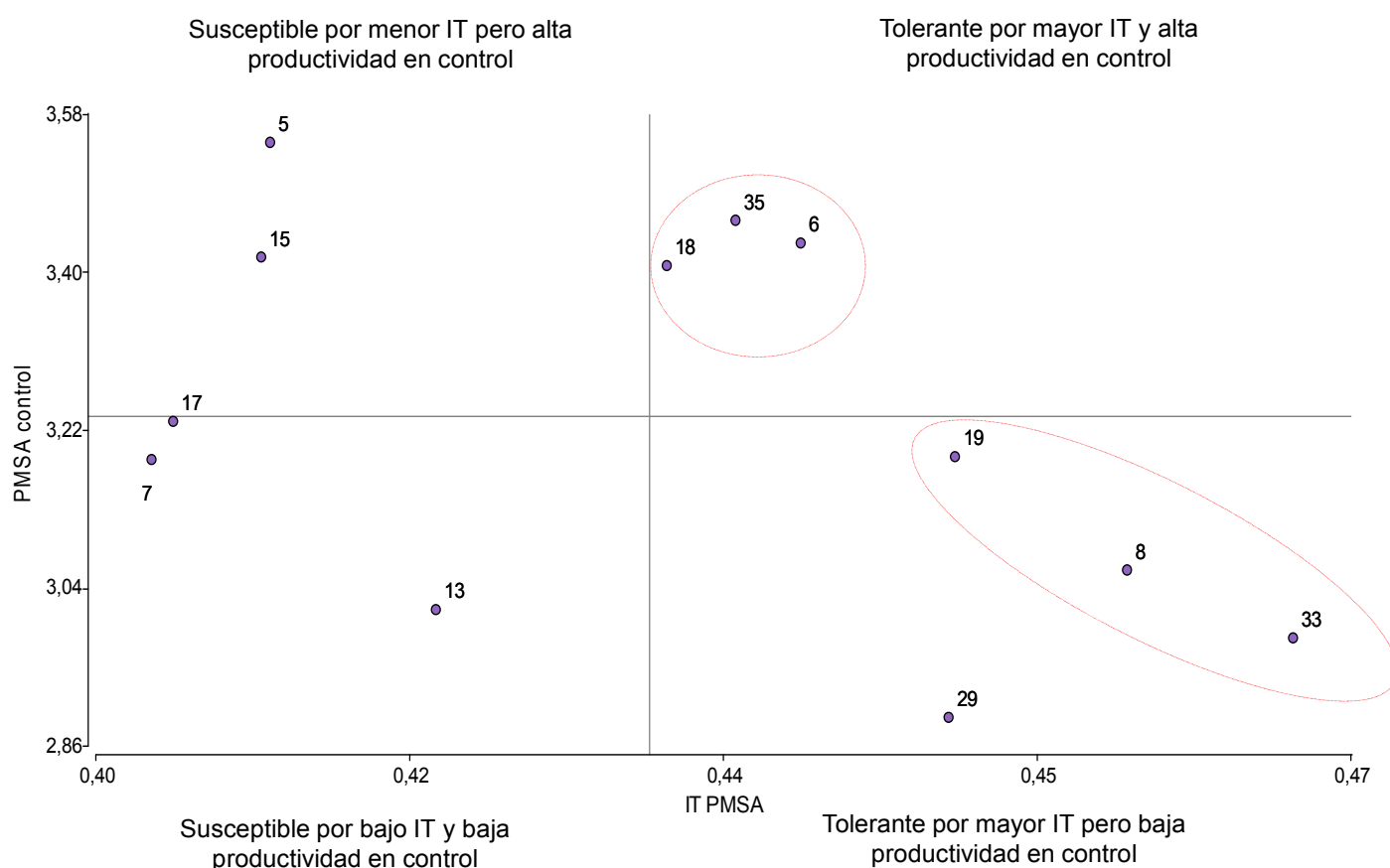
**Figura 4.23:** Media y error estándar (E.E. en barras) para cada FMH, para los diferentes índices de tolerancia (IT), para el primero (IT-PS1), segundo (IT-PS2) y tercer corte (IT-PS3) y para el acumulado de los mismos (IT-PMSA). Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.





**Figura 4.24:** Índice de Tolerancia (IT) promedio para la producción de materia seca (PS) de los tres cortes y la acumulada (IT-PS1, IT-PS2, IT-PS3, IT-PMSA) y error estándar (E.E. en barras) para la interacción entre los cuatro ambientes y las 12 FMH. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La distribución de las FMH en un biplot (Figura 4.25) para la producción de materia seca acumulada producida en ambiente control (PMSA control) en función del índice de tolerancia en los ambientes halomórficos (IT-PMSA), mostró cuatro cuadrantes. En el cuadrante superior derecho se ubicaron las FMH de elevada productividad y elevado índice de tolerancia (FMH: 6, 18, 35) consideradas **tolerantes y altamente productivas (TAP)**. En el cuadrante inferior derecho se ubicaron las FMH de elevados índices de tolerancia pero con una productividad por debajo de la media, denominadas **tolerantes y poco productivas (TBP, FMH: 8, 19, 29, 33)**. En tanto que en el cuadrante superior izquierdo, se ubicaron las FMH más productivas pero que presentaron un índice de tolerancia por debajo de la media (FMH: 5 y 15) denominadas **susceptibles y altamente productivas (SAP)**. Por último para el cuadrante inferior izquierdo se observaron las FMH con menor productividad y menor índice de tolerancia (FMH: 7, 13, 17) denominadas **susceptibles y poco productivas (SBP)**.



**Figura 4.25:** Biplot de las FMH para la producción de materia seca acumulada (PMSA control) en el ambiente control en función del índice de tolerancia de la producción de materia seca acumulada (IT-PMSA), destacándose las FMH posibles de ser incorporadas a futuros programas de mejoramiento de la especie.

### 3. Efecto del halomorfismo en las FMH: estimación de los componentes de la variancia y Heredabilidad en sentido estricto.

Las estimaciones de la heredabilidad en sentido estricto por ambiente, se realizaron a dos niveles:  $h^2_{\text{individual}}$  y  $h^2_{\text{PMF}}$ . En la tabla 4.8 se observa las variancia genotípica o familiar ( $\sigma^2_{\text{FMH}}$ ), la variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ) y la variancia dentro de cada FMH ( $\sigma^2_w$ ) y las heredabilidades mencionadas, para todos los caracteres. La  $h^2$  en base individual ( $h^2_{\text{individual}}$ ) fue superior para todos los caracteres comparativamente con la  $h^2$  en base a media familiar ( $h^2_{\text{PMF}}$ ).

**Tabla 4.8:** Variancia genotípica o familiar ( $\sigma^2_{\text{FMH}}$ ), variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), variancia dentro de cada FMH ( $\sigma^2_w$ ),  $h^2$  en base individual ( $h^2_{\text{individual}}$ ) y  $h^2$  en base a media familiar ( $h^2_{\text{PMF}}$ ), para todos los caracteres en estudio en cada ambiente. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), peso de materia seca (PS), peso de manteria seca acumulada (PMSA), índice de tolerancia (IT), área foliar (AF1), largo de raíces (L-Raíces), ancho de hoja (A-Hoja), largo de hoja (L-Hoja), contenido relativo de agua (CRA) 24h y 110d.

	Ambiente	$\sigma^2_{\text{FMH}}$	$\sigma^2_e$	$\sigma^2_w$	$h^2_{\text{individual}}$	$h^2_{\text{PMF}}$
<b>Alt-0</b>	Control	0,59	6,40	0,00	0,34	0,22
	Sódico	0,76	9,18	0,00	0,30	0,20
	Salino	0,41	12,18	0,00	0,13	0,09
	Salino-Sódico	0,26	7,78	0,00	0,13	0,09
<b>Alt-1</b>	Control	0,00	16,32	2,02	0,00	0,00
	Sódico	2,79	13,69	1,08	0,64	0,38
	Salino	3,10	16,32	2,99	0,55	0,36
	Salino-Sódico	0,71	15,29	1,49	0,16	0,12
<b>Alt-2</b>	Control	0,35	15,37	2,79	0,08	0,06
	Sódico	2,82	14,75	1,19	0,60	0,36
	Salino	2,66	16,40	2,62	0,49	0,32
	Salino-Sódico	0,94	13,76	0,00	0,26	0,17
<b>Alt-3</b>	Control	3,24	20,34	2,02	0,51	0,32
	Sódico	0,92	13,62	0,30	0,25	0,17
	Salino	2,10	8,64	4,01	0,57	0,41
	Salino-Sódico	0,40	28,09	0,00	0,06	0,04
<b>Nmac0</b>	Control	0,69	11,22	0,00	0,23	0,16
	Sódico	2,31	10,63	0,00	0,71	0,39
	Salino	0,48	9,61	0,00	0,19	0,13
	Salino-Sódico	0,42	9,92	0,00	0,16	0,11
	Control	6,66	78,50	0,46	0,31	0,20
	Sódico	8,12	56,85	0,00	0,50	0,30

<b>Nmac1</b>	Salino	9,36	59,75	0,00	0,54	0,32
	Salino-Sódico	6,86	30,03	0,00	0,74	0,41
<b>Nmac2</b>	Control	18,66	123,88	3,46	0,51	0,31
	Sódico	17,31	62,57	0,00	0,87	0,45
	Salino	17,14	133,17	0,00	0,46	0,28
	Salino-Sódico	1,72	35,05	3,57	0,17	0,13
<b>Nmac3</b>	Control	37,58	234,70	21,34	0,51	0,32
	Sódico	15,52	96,04	0,74	0,55	0,33
	Salino	33,87	145,68	0,37	0,75	0,41
	Salino-Sódico	7,34	101,00	0,00	0,27	0,18
<b>PS1</b>	Control	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00
	Sódico	0,01	0,05	0,00	0,57	0,33
	Salino	0,00	0,04	0,00	0,10	0,07
	Salino-Sódico	0,00	0,03	0,00	0,05	0,04
<b>PS2</b>	Control	0,00	0,14	0,03	0,00	0,00
	Sódico	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
	Salino	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
	Salino-Sódico	0,00	0,03	0,00	0,12	0,09
<b>PS3</b>	Control	0,00	0,25	0,04	0,00	0,00
	Sódico	0,00	0,06	0,00	0,11	0,08
	Salino	0,00	0,05	0,00	0,20	0,13
	Salino-Sódico	0,00	0,02	0,00	0,39	0,25
<b>PMSA</b>	Control	0,00	0,86	0,19	0,00	0,00
	Sódico	0,00	0,35	0,00	0,01	0,01
	Salino	0,00	0,29	0,00	0,07	0,05
	Salino-Sódico	0,01	0,17	0,00	0,14	0,10
<b>IT-PS1</b>	Sódico	0,02	0,08	0,00	0,76	0,41
	Salino	0,00	0,06	0,00	0,17	0,12
	Salino-Sódico	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00
<b>IT-PS2</b>	Sódico	0,00	0,03	0,00	0,32	0,21
	Salino	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
	Salino-Sódico	0,00	0,02	0,00	0,17	0,12
<b>IT-PS3</b>	Sódico	0,00	0,02	0,00	0,07	0,05
	Salino	0,00	0,02	0,00	0,30	0,20
	Salino-Sódico	0,00	0,01	0,00	0,40	0,25
<b>IT-PMSA</b>	Sódico	0,00	0,03	0,00	0,24	0,16
	Salino	0,00	0,02	0,00	0,17	0,12
	Salino-Sódico	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
	Control	29,05	2373,64	201,64	0,04	0,04
	Sódico	159,52	1412,26	0,00	0,41	0,25

<b>AF1</b>	Salino	30,91	1195,08	0,00	0,10	0,07
	Salino-Sódico	43,56	945,56	0,00	0,18	0,12
<b>L-Raíces</b>	Control	9,55	139,24	0,00	0,26	0,17
	Sódico	2,16	64,00	3,39	0,12	0,09
	Salino	2,19	38,94	0,00	0,21	0,14
	Salino-Sódico	3,61	47,33	2,31	0,27	0,19
<b>A-Hoja</b>	Control	0,04	0,46	0,00	0,29	0,19
	Sódico	0,01	0,32	0,00	0,12	0,08
	Salino	0,04	0,36	0,01	0,43	0,27
	Salino-Sódico	0,04	0,29	0,01	0,47	0,29
<b>L-Hoja</b>	Control	0,04	15,21	0,72	0,01	0,01
	Sódico	1,44	11,70	0,00	0,44	0,27
	Salino	0,00	12,04	0,00	0,00	0,00
	Salino-Sódico	1,28	7,40	0,90	0,53	0,33
<b>CRA-24H</b>	Control	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
	Sódico	0,00	0,04	0,00	0,04	0,03
	Salino	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
	Salino-Sódico	0,00	0,01	0,00	0,47	0,28
<b>CRA-110d</b>	Control	0,00	0,01	0,00	0,28	0,18
	Sódico	0,00	0,01	0,00	0,03	0,02
	Salino	0,00	0,03	0,00	0,21	0,14
	Salino-Sódico	0,00	0,06	0,00	0,24	0,16

Los mayores valores de  $h^2_{\text{individual}}$  se obtuvieron en los ambientes halomórficos para la mayoría de los caracteres estudiados, destacándose estimaciones superiores a 0,5 para altura y número de macollos en distintas fechas obtenidos en los ambientes sódico y salino. La producción de materia seca logró la mayor  $h^2_{\text{individual}}$ , en el ambiente salino-sódico (0,05 a 0,39), seguido por el ambiente sódico (0 a 0,57) y luego el salino (0 a 0,20). En tanto que, para el índice de tolerancia, los mayores valores se obtuvieron en el ambiente sódico, seguido por el ambiente salino-sódico y en última instancia el ambiente salino.

Por otro lado, en la tabla 4.9 se observa la heredabilidad en base promedio familiar ( $h^2_{\text{PFM}}$ ), destacándose elevados valores para  $K^+$  y  $Na^+$  en el ambiente sódico; sin embargo, para la relación  $K^+/Na^+$  el mayor valor lo presentó el ambiente control y el MDA mostró valores elevados en todos los ambientes con excepción del salino-sódico.

**Tabla 4.9:** Variancia genotípica o familiar ( $\sigma^2_{FMH}$ ), variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ),  $h^2$  en base a media familiar ( $h^2_{PMF}$ ), para contenido de potasio ( $K^+$ ), sodio ( $Na^+$ ), relación potasio/sodio ( $K^+/Na^+$ ) y contenido de malondialdehído (MDA) todos los caracteres en estudio en cada ambiente.

	<b>Ambiente</b>	<b><math>\sigma^2_{FMH}</math></b>	<b><math>\sigma^2_e</math></b>	<b><math>h^2_{PMF}</math> (%)</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	Control	1073,22	4369,21	0,42
	Sódico	799,19	1623,28	0,60
	Salino	0,00	5266,40	0,00
	Salino-Sódico	127,46	2227,84	0,15
<b>Na<sup>+</sup></b>	Control	196,28	1235,52	0,32
	Sódico	667,71	2733,20	0,42
	Salino	0,00	4841,38	0,00
	Salino-Sódico	909,63	7223,30	0,27
<b>K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup></b>	Control	0,06	0,09	0,66
	Sódico	0,00	0,03	0,25
	Salino	0,03	0,11	0,44
	Salino-Sódico	0,01	0,04	0,40
<b>MAD</b>	Control	0,55	1,04	0,61
	Sódico	0,85	1,21	0,68
	Salino	1,51	0,96	0,83
	Salino-Sódico	0,02	0,98	0,05

## DISCUSIÓN

---

El desarrollo de germoplasma de *Thinopyrum ponticum* en Argentina ha sido abordado a través de diversas investigaciones que han aportado a los programas de mejoramiento genético de la especie, en particular asociados a obtener cultivares de elevada productividad forrajera y tolerantes a suelos halomórficos (Andrés, 2001; Pistorale *et al.*, 2008; Bazzigalupi *et al.*, 2008, Rosso y Andrés, 2009; Acuña *et al.*, 2009; Mansilla, 2012). Estos suelos se categorizan en suelos alcalinos o sódicos y suelos salinos o la combinación de salino-sódicos (Lavado y Taboada, 2009a, 2009b). En estas condiciones solo algunas especies vegetales adaptadas sobreviven debido a que la salinidad dificulta la absorción de agua y la sodicidad genera deficiencias de algunos nutrientes y exceso de otros, presentando desbalances en las plantas. Desde el punto de vista del mejoramiento genético la tolerancia al halomorfismo es un carácter complejo y poligénico (Munns, 2002; Ashraf, 2004), por tal motivo es de gran importancia estudiar el comportamiento de la descendencia para determinar el componente genético aditivo y aplicar selección (Allen, *et al.*, 1985; Flowers, 2004; Ashraf, 2004).

En el presente capítulo se estudió el crecimiento en estado de plántula de 12 familias de medio hermanos derivadas de 35 genotipos de agropiro (Capítulo III), en condiciones de halomorfismo en hidroponía, considerando cuatro sustratos con exceso de sales que simulaban distintos tipos de suelo: 1. Control; 2. Salino; 3. Sódico; 4. Salino-Sódico. Los resultados obtenidos indicaron que todas las FMH redujeron el crecimiento en halomorfismo. En general los sustratos salino-sódico y salino fueron los que más afectaron el crecimiento y los indicadores más relevantes para la discusión que se presenta a continuación fueron el Peso de la materia seca acumulada (PMSA), la Relación potasio/sodio ( $K^+/Na^+$ ), el Índice de Tolerancia (IT) y el Contenido Relativo de Agua (CRA).

### **1. El agrupamiento de las familias y su comportamiento en halomorfismo**

Según los resultados expuestos en el presente estudio, el agrupamiento de las familias considerando la producción de materia seca acumulada en el control y el índice de tolerancia en los ambientes halomórficos, permitió detectar dos grandes grupos de familias, las tolerantes y las susceptibles. En particular dentro de las tolerantes se destacaron algunas altamente productivas (TAP: 6, 18, 35) y otras familias con baja productividad (TBP: 8, 19, 33). Dentro del grupo de las Susceptibles

se diferenciaron aquellas con alta productividad (SAP: 5, 15) y otras con menor productividad (SBP: 7, 13).

El peso de la materia seca acumulada es una variable compleja altamente afectada por el ambiente y que resume otras variables de crecimiento (Jewis, 1972; Zarrouh, 1983; Bertin, 1993). Se ha indicado que la salinidad disminuye el crecimiento de las plantas a través de la reducción del área foliar (Greenway y Munns 1980; Rawson y Munns, 1984), de la fotosíntesis, del número de macollos y del crecimiento radicular. En el presente estudio las familias TAP y SAP mostraron valores elevados del área foliar y número de macollos en cada ambiente, indicando que la afectación del halomorfismo no se reflejó en la productividad de dichas familias. En particular las TAP presentaron valores elevados de  $Mg^+$ , compuesto básico de la clorofila y de la producción de fotosíntesis. Contrariamente las FMH33 (TBP) y 13 (SAP) presentaron valores muy bajos de área foliar y macollamiento, en particular en el segundo y tercer corte. Por otro lado, todas las familias redujeron la longitud de la raíz en los ambientes halomórficos. Estos resultados indicarían que, si bien el halomorfismo afectó diferencialmente el crecimiento, algunas familias (TAP y SAP) expresaron un fondo genético de alta productividad, indistintamente de su tolerancia o susceptibilidad. Si bien el número de macollos es una variable que puede utilizarse para aplicar selección indirecta para rendimiento de materia seca (Rashal y Kholms, 1983; Grieve *et al.*, 2001; Sargeant *et al.*, 2006; Rosso y Andrés, 2009; Acuña *et al.*, 2009; Maciel *et al.*, 2015), en el presente estudio los sucesivos cortes pudieron afectar la productividad de las familias, provocando interacciones adicionales a las del halomorfismo. La reducción del crecimiento radicular de las familias, podría deberse a que el agropiro en condiciones halomórficas, prioriza la asignación de recursos a la biomasa aérea, tal como lo hacen otras gramíneas tolerantes (Hester *et al.*, 2001).

El Índice de tolerancia fue un indicador preciso de la respuesta al halomorfismo de las FMH. En general las familias mostraron diferentes IT dependiendo del ambiente; en particular en los ambientes salino y sódico las familias presentaron mayor tolerancia; mientras que en el salino-sódico se observaron los menores IT, inclusive para las FMH de comportamiento tolerante. Numerosos estudios reportaron que el agropiro alargado tolera elevadas concentraciones salinas en estudios en ambientes controlados con NaCl (Grattan *et al.*, 2004; Suyama *et al.*, 2007a) y en campo salino (Suyama *et al.*, 2007b), sin embargo, no existen antecedentes referidos al Índice de Tolerancia de la especie en condiciones salino-sódicas.

En general las FMH variaron en la relación  $K^+/Na^+$  acorde con el ambiente; las familias SBP (7, 13) mostraron las menores relaciones en los ambientes halomórficos,



sugiriendo incapacidad de mantener estable la concentración de  $K^+$ . Al analizar cada ión por separado en estas familias (SBP) se observó que lograron la menor concentración de  $K^+$ , mientras que el resto de las familias mantuvieron un nivel estable. En el caso del ion  $Na^+$ , se distinguieron la 5 (SAP) y la 6 (TAP) con la mayor y menor concentración respectivamente. La menor cantidad de  $Na^+$  estaría regulada por el menor ingreso o la mayor extrusión del ión y niveles estables de  $K^+$  (Shabala y Cuin, 2008; Negrão *et al.*, 2017). Por lo tanto, este mecanismo de tolerancia sería efectivo en las familias tolerantes estudias.

El contenido relativo de agua (CRA) (Barrs, 1968; Díaz-Pérez *et al.*, 1995) es la variable más usada para medir tolerancia a salinidad (Acevedo *et al.*, 1998, Munns, 2002; de Araújo *et al.*, 2006) en diversas especies. En el presente estudio se observó que la mayoría de las FMH tolerantes presentaron elevado contenido hídrico a los 110 días, mientras que las susceptibles lograron un CRA bajo. Esto indicaría que las FMH tolerantes evidenciaron capacidad de ajuste osmótico, frente a una condición de disminución del potencial hídrico del medio en el que crecieron.

## **2. Estimación de los parámetros genéticos**

En el presente estudio la heredabilidad de la mayoría de los caracteres fue mayor en los ambientes halomórficos. Los caracteres considerados relevantes para seleccionar fueron el índice de tolerancia para la producción de materia seca acumulada (IT-PMSA); la relación  $K^+/Na^+$  y la producción de materia seca acumulada (PMSA). El IT-PMSA presentó el mayor valor en el ambiente sódico ( $h^2=0,24$ ); similares resultados obtuvieron Ashraf *et al.*, (1987). Para la relación  $K^+/Na^+$  los valores más altos fueron en los ambientes salino y salino-sódico ( $h^2=0,44$  y  $h^2=0,40$ ); similares resultados observaron García *et al.*, (1997) para *Oriza sativa* y *Triticum aestivum* evaluadas en salinidad. Para la PMSA la  $h^2$  fue de 0,14 en el ambiente salino-sódico, este valor fue bajo comparado con otros autores que determinaron mayores valores en caracteres de crecimiento (Asrhaf *et al.*, 1986b; Ray y Harms, 1994; Sujatha *et al.*, 2002; Zabala, 2011; Zabala *et al.*, 2011).

En términos generales las  $h^2$  en base individual fueron mayores en los ambientes halomórficos, por lo tanto, estas estimaciones sugieren que se pueden esperar respuestas rápidas a la selección en dichos ambientes. Estos resultados indicarían que la selección sería más eficiente a nivel individual y por ambiente.

## CONCLUSIONES

---

Los resultados obtenidos en el presente capítulo permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- Bajo condiciones de halomorfismo en hidroponia, las 12 FMH evaluadas presentaron un comportamiento diferencial en caracteres morfo-fisiológicos que permitieron agruparlos como tolerantes y susceptibles.
- La variabilidad fenotípica observada expresó un componente genético aditivo (heredable) diferencial que dependió del ambiente. Las mayores  $h^2$  se obtuvieron en los ambientes halomórficos.
- Los mayores valores de  $h^2$ , se obtuvieron a nivel individuo, lo que indica que la selección debería realizarse por individuo y por ambiente.
- El índice de tolerancia y la relación  $K^+/Na^+$ , serían buenos indicadores para seleccionar FMH tolerantes al halomorfismo.
- Las FMH seleccionadas como tolerantes fueron: 6, 8, 18, 19, 33 y 35, estas serán evaluadas a campo en el siguiente capítulo.

## **CAPITULO V**

---

# **COMPORTAMIENTO AGRONOMICO DE LAS FAMILIAS SELECCIONADAS**

## INTRODUCCIÓN

---

El mejoramiento genético en agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth *et* Dewey] a nivel mundial ha recibido poca atención por parte de los mejoradores de especies forrajeras, y ello se refleja en la escasa cantidad de cultivares inscriptos, algunos de ellos con una misma base genética. Por ejemplo, en Estados Unidos y Canadá se han desarrollado y liberado seis cultivares, cuatro de ellos (Alkar, Nebraska, Orbit, Platte), procedentes de un mismo germoplasma: PI 98526 (Alderson y Sharp, 1994). En Argentina en 1955 se desarrolló el primer cultivar “El Vizcachero INTA” (Ferrari y Maddaloni, 2001), de amplia difusión en el país. Desde el punto de vista genético, se considera que este cultivar representó una población, debido a la baja presión de selección aplicada en su obtención y a la elevada tasa de alogamia, propia de la especie. En los últimos años, el INTA ha realizado diversos estudios de variabilidad genética en caracteres de importancia agronómica de la especie (Andrés, 2001; Guillén, 2002, Pistorale *et al.*, 2008, Acuña *et al.*, 2009; Ramirez, 2010) y en aspectos relacionados con la tolerancia a estreses abióticos, en particular salinidad y sequía (Basigaluppi y Pistorale, 2009; Pistorale *et al.*, 2009, Acuña *et al.*, 2009; Mansilla *et al.*, 2011; Maciel *et al.*, 2015; Veliz *et al.*, 2018). Todos estos avances fueron aplicados en los programas de mejoramiento genético del INTA, y actualmente el 42% de los cultivares registrados en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) del Instituto Nacional de Semillas (INASE) son propiedad del INTA (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1:** Registro de cultivares de *Thinopyrum ponticum*. RNC-INASE

Cultivar	Inscripción RNC	Inscripción RNCP	Validez RNPC	Solicitante
EL POLACO INTA	1981-01-13	0000-00-00	0000-00-00	
EL VIZCACHERO INTA	1981-01-13	0000-00-00	0000-00-00	
LACAR	1997-11-28	1997-11-28	2017-11-28	INTERSEM S.A
GUAPO	2000-11-02	2000-11-02	2020-11-02	LOS PRADOS S.A.
HULK	2005-04-26	2005-08-18	2025-08-18	GENTOS S.A.
BARPIRO	2005-07-20	2005-08-22	2025-08-22	PALAVERSICH Y CIA S.A.C.
MATORRAL	2006-08-29	0000-00-00	0000-00-00	ZAMBRUNI JOSE ANTONIO
RAYO INTA FCA	2006-10-18	2006-10-18	2026-10-18	INST. NAC. TEC. AGROPECUARIA
TOBIANO INTA	2007-05-14	2007-05-14	2027-05-14	INST. NAC. TEC. AGROPECUARIA
ATAHUALPA INTA	2008-03-19	2008-03-19	2028-03-19	INST. NAC. TEC. AGROPECUARIA
PUCARA PV-INTA	2010-06-18	2010-06-18	2030-06-18	INST. NAC. TEC. AGROPECUARIA
RELAMPAGO	2011-09-13	0000-00-00	0000-00-00	KWS ARGENTINA S.A.
ZHALINO	2011-12-30	0000-00-00	0000-00-00	KWS ARGENTINA S.A.
HERCULES	2013-02-14	2013-02-14	2033-02-14	GENTOS SA
EXTREMO INTA	2013-05-21	2013-05-21	2033-05-21	INST. NAC. TEC. AGROPECUARIA
TORNADO	2014-08-21	0000-00-00	0000-00-00	JOSE R. PICASSO S.A.
RANQUEL INTA	2015-09-29	2015-09-29	2035-09-29	INTA
LIEBRE	2016-09-13	2016-09-13	2036-09-13	FACULTAD DE AGRONOMIA - UBA
SOFT	2018-10-25	0000-00-00	0000-00-00	GENTOS S.A.

Fuente: <https://gestion.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones>

Si bien se han aplicado criterios agronómicos en el desarrollo de estos cultivares a través del mejoramiento convencional, la necesidad de generar nuevos conocimientos con especial énfasis en aspectos moleculares, fisiológicos y agronómicos relacionados con el halomorfismo resulta de gran importancia para el desarrollo de nuevos cultivares destinados a ambientes cada vez más restrictivos. La presente tesis abordó esta necesidad a través de los capítulos anteriores y el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el comportamiento agronómico en producción de forraje y de semilla de las seis familias de medios hermanos seleccionadas por su tolerancia al halomorfismo.

## HIPOTESIS Y OBJETIVOS

---

### **Hipótesis**

- Existe variabilidad morfológica y genética en las seis FMH seleccionadas con elevada productividad de forraje y semillas
- Existe un componente genético en la variación fenotípica observada que permite estimar la heredabilidad en sentido estricto.

### **Objetivos**

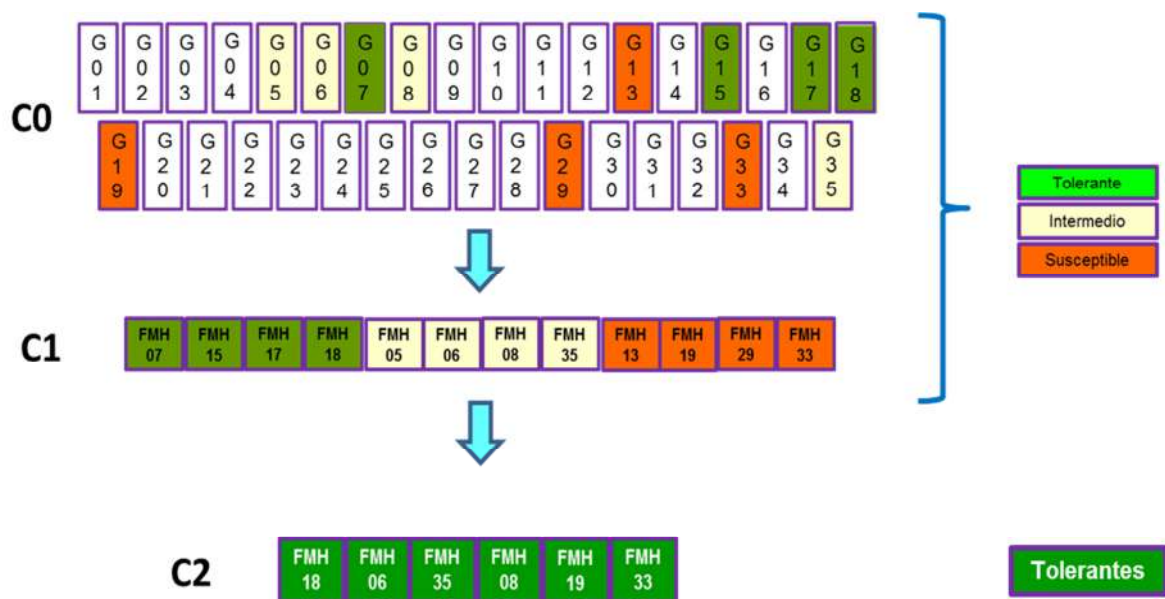
- Estimar la variabilidad genética existente entre las FMH seleccionadas de *T. ponticum* a través de caracteres agronómicos.
- Estimar componentes de varianza y heredabilidad en sentido estricto en los caracteres asociados a producción de forraje y semilla.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Las familias de medio hermanos (FMH) estudiadas

Las seis familias (6, 8, 18, 19, 33 y 35) seleccionadas por tolerancia a halomorfismo, resultado de la selección realizada en los diferentes ciclos de selección correspondiente a los capítulos anteriores (Figura 5.1); fueron evaluadas a campo sin restricciones en condición de planta aislada.

#### Diagrama de selección



**Figura 5.1:** Representación del diagrama de selección para la obtención de las seis FMH seleccionadas para evaluar en el presente capítulo. C0: inicio del primer ciclo de caracterización (capítulo II y III); C1: primer ciclo de selección (capítulo IV); C2: segundo ciclo de caracterización y selección (capítulo V).

### 2. Siembra y trasplante a campo

#### 2.1 Diseño experimental

En el mes febrero de 2016, las seis FMH fueron sembradas en invernáculo y mantenidas bajo control hasta su trasplante al campo de la EEA Pergamino (18-05-2016) en un suelo Argiudol típico serie Pergamino (33°56' S; 60°33' O). Cada FMH estuvo representada 24 genotipos (plantas) dispuestos en un diseño experimental de

bloques completos al azar con tres repeticiones (ocho genotipos/repetición) en condición de planta aislada a 0,80cm entre hileras y entre plantas (Foto 5.1).

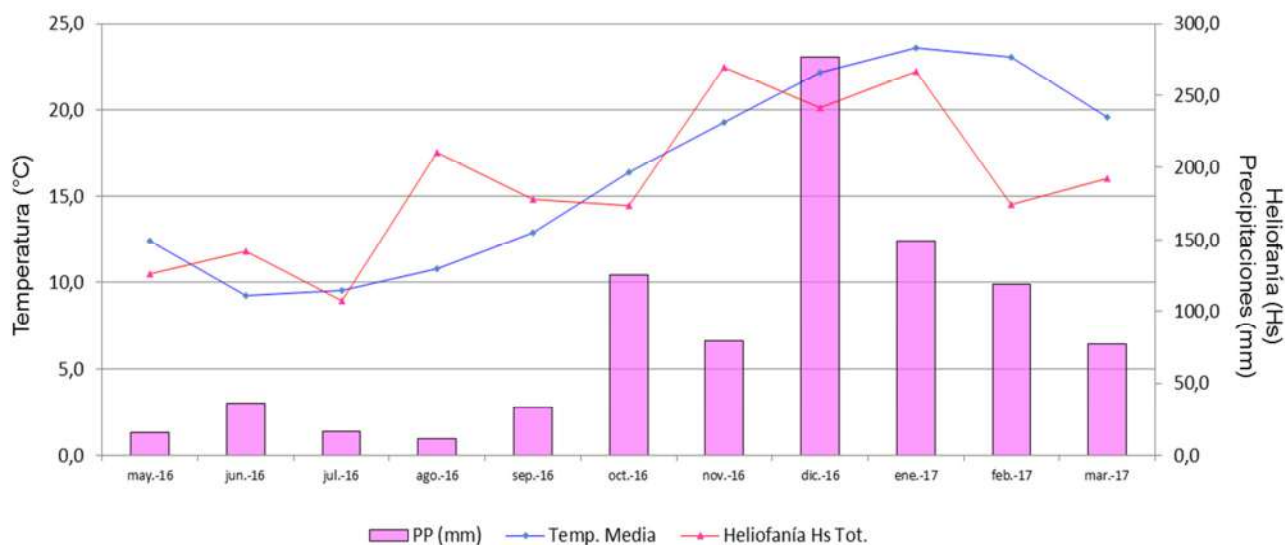


**Foto 5.1:** Disposición a campo de las seis FMH en planta aislada.

## **2.2 Caracteres evaluados**

Entre los meses de mayo 2016 a marzo de 2017 se realizó la evaluación agronómica de las FMH, y para ello se registraron 11 caracteres en planta individual (Tabla 5.2). En la Figura 5.2, se observan los datos de temperatura, radiación y precipitación correspondiente al periodo mencionado a campo.





**Figura 5.2:** Datos meteorológicos desde mayo 2016 a marzo 2017. PP: precipitaciones (mm), Temp. Media: temperatura media (°C) y Heliofanía Hs Tot: suma de horas totales de sol.

**Tabla 5.2:** Caracteres evaluados (abreviatura; unidad), fecha de medición para las seis FMH.

Caracter	Abreviatura, unidad	Fecha de Evaluación
Altura de planta	Alt 1 (cm)	15-08-16
	Alt 2 (cm)	15-10-16
	Alt 3 (cm)	15-12-16
Número de macollos	N mac 1	15-08-16
	N mac 2	15-10-16
	N mac 3	15-12-16
Producción de Materia Seca	PMS (g)	12-10-16
Emergencia de espigas	IE (días)	Días desde 01/09
Número de espigas	NE	Luego de la cosecha
Peso de mil semillas	PMIL (g)	Febrero 2017
Peso total de semillas	PSEM (g)	Febrero 2017

A continuación, se indican los procedimientos de los registros por carácter evaluado: **Altura de planta (Alt)**: Las mediciones se realizaron en cm, con una regla graduada apoyada en el centro de cada planta hasta el extremo superior. **Número de macollos vegetativos (Nmac)**: por conteo directo del número de macollos producido por cada planta. **Peso de la materia seca (PMS)**: se efectuó con hoz a una altura de corte de 4 cm (altura de puño) desde el nivel del suelo. Cada planta fue identificada y conservada en bolsas de papel tipo kraft, se secó en estufa de aire forzado (60°C) por un período de 48 hs, hasta lograr un peso seco constante. Luego se pesó en balanza OHAUS TS4ks (Máx 4000g, d=0,1g) en gramos por planta. **Emergencia de espigas (IE)**: se registró la variable como el número de días transcurridos desde el 01/09/2014 hasta la emergencia de la primera espiga por planta. Este carácter, sería indicativo de la fecha de floración. **Número de espigas (NE)**: el 07/02/17 se realizó la cosecha de espigas de cada planta individual mediante hoz. Cada planta fue puesta en bolsas de papel tipo kraft, trasladadas al gabinete y puestas a secar a temperatura ambiente. Cuando todas las plantas lograron una humedad inferior al 14% y previo a la trilla individual, se realizó el conteo directo del número de macollos reproductivos (número de espigas) por planta. **Peso de mil semillas (PMIL)**: del total de semillas producido por cada planta se tomaron al azar tres muestras de 100 semillas puras, las que fueron pesadas en balanza de precisión Chyo Modelo MJ-300 (Máx=300g, d=0,001g). Se calculó el promedio de los 3 pesos de 100 semillas y el valor fue multiplicado por 10, a partir de allí se obtuvo el peso de 1000 semillas de cada planta en gramos. **Peso total de semillas (PSEM)**: se realizó la trilla de las espigas de cada planta con una trilladora de cilindro dentado marca Allan Machine C.O. Modelo SVSRGI. Las espigas de cada planta trillada fueron sometidas a limpieza manual a través de las siguientes zarandas: 6/64" x 3/4", 5,5/64" x 3/4" y 1/14"x1/2". Las semillas obtenidas por planta fueron pesadas en balanza de precisión Chyo Modelo MJ-300 (Máx=300g, d=0,001g) obteniendo así el rendimiento de semilla de cada planta en gramos.

### 3. Análisis de la información

Los datos obtenidos fueron analizados a través de modelos lineales mixtos utilizando Infostat® en interfaz con R, este método permite comparar el comportamiento promedio de los genotipos para los diferentes caracteres, y se basa en la estimación de los componentes de varianza, por medio del estimador de máxima verosimilitud restringida (RELM) (Di Renzo *et. al*, 2012). Previo al análisis se corroboró la distribución normal de los residuos y la homogeneidad de varianza residual, dado que los modelos mixtos se basan en el supuesto de que los efectos aleatorios y los

errores son independientes y se distribuyen normalmente (Balzarini *et al.*, 2015 ). Cuando algún supuesto no se cumplió, se corrigió a través de la modelación de los datos, en el marco teórico de los modelos lineales mixtos, eligiendo para cada variable el modelo que menor valor de AIC y BIC presentó. Una vez corroborados los supuestos se aplicaron análisis de variancia, se estimaron los componentes y se realizó comparación de medias. Por último, se aplicaron los análisis multivariados necesarios. A continuación, se detalla cada uno de los análisis.

### 3.1 Análisis de variancia entre FMH

Con el fin de analizar la significancia de las variancias de los diferentes caracteres entre las FMH se realizaron análisis inter-familiares para cada carácter (Tabla 5.3). Se utilizó un modelo de bloques completos aleatorizado:

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  es la variable dependiente (el carácter en estudio),

$\mu$  es la media general,

$\pi_i$  representa el componente de variancia debido a FMH,

$\beta_j$  es el componente de variancia debido a bloques y

$\varepsilon_{ij}$  es el componente de variancia debida al error experimental.

Luego de realizar este análisis con el objetivo de detectar cuales FMH difirieron significativamente en la media de los caracteres evaluados, se realizó la *prueba t* para la diferencia mínima significativa (LSD, “*least significance difference*”).

**Tabla 5.3:** Análisis de la varianza en base a media por parcela.

Fuentes de variación	GL	E(CM)
Repeticiones	(r-1)	
Familias	(f-1)	$\sigma_e^2 + r \sigma_F^2$
Error	(r-1) (f-1)	$\sigma_e^2$

Dónde:  $r$  son los 3 bloques o repeticiones,  $f$  son las seis familias.  $\sigma^2_e$  es la variancia del error que expresa la variación ambiental entre parcelas y  $\sigma^2_F$  es la variancia genética existente entre las familias de medios hermanos.

### 3.2 Estimaciones de los componentes de la variancia

Los componentes de variancia para cada variable se estimaron a partir de las esperanzas de los cuadrados medios (E (CM)) obtenidas en los cuadros de análisis de variancia. Para todas las estimaciones se siguió los modelos delineados por Nguyen y Sleper (1983).

$$\sigma^2_F = (CM_f - CM_e)/r$$

Dónde:

$\sigma^2_F$  = variancia genética de las familias de medio hermanos

$CM_f$  = cuadrado medio de las familias de medio hermanos

$CM_e$  = cuadrado medio del error experimental

$r$  = número de repeticiones

## 4. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto

La heredabilidad expresa la porción de la variancia total que es atribuible a los efectos medios de los genes y esto es lo que determina el grado de parecido entre parientes. La heredabilidad posee un papel predictivo en el estudio genético ya que expresa la confiabilidad del valor fenotípico como indicación del valor reproductivo. El mejoramiento tradicional mide únicamente los valores fenotípicos de los individuos, pero es el valor reproductivo el que determina su influencia en la siguiente generación. Por tanto, si el mejorador selecciona individuos para que sean progenitores de acuerdo a sus valores fenotípicos, el éxito en cambiar las características de la población puede predecirse únicamente a partir del conocimiento del grado de correspondencia entre los valores fenotípicos y los reproductivos. Este grado de correspondencia es medido a través de la heredabilidad (Falconer, 1989).

Los valores de heredabilidad en sentido estricto, basados en el análisis de planta individual se estimaron a partir del promedio de la media fenotípica familiar (PMF) para cada carácter (Falconer, 1981). Las estimaciones se realizaron en base a los componentes de variancia (Cuadro 2) según Nguyen y Sleper (1983) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$h^2_{PMH} = \sigma^2_F / (\sigma^2_F + \sigma^2_e/r)$$

Dónde:  $r$  son los 3 bloques o repeticiones,  $\sigma_e^2$  es la variancia del error que expresa la variación ambiental entre parcelas y  $\sigma_F^2$  es la variancia genética existente entre las familias de medios hermanos.

## **5. Análisis Multivariado**

Con los datos obtenidos de las variables agronómicas, se decidió aplicar análisis multivariado con el objetivo de detectar diferencias y/o similitudes entre los genotipos (Crisci y Lopez Armengol, 1983), en respuesta a los caracteres evaluados. Se realizó Análisis de Componentes Principales, con el objetivo de condensar la información obtenida, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad posible; y Análisis de Conglomerados Jerarquizado (Cluster), cuyo objetivo es realizar un agrupamiento de FMH por similitud, se usó distancia Euclídea y el método del encadenamiento promedios (*Average linkage* o UPGMA “*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*” o “Método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada”).

## RESULTADOS

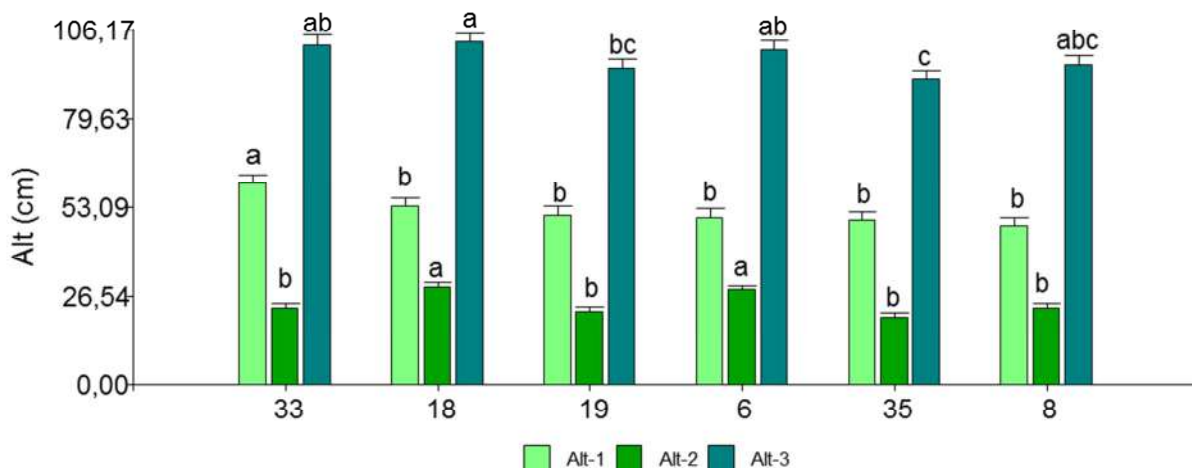
### 1. Comportamiento de las FMH a campo: Caracteres agronómicos

De manera descriptiva en el Tabla 5.4 se observa, la media, el desvío estándar, el coeficiente de variación, valores mínimo y máximo, el efecto de ambiente, el efecto de familias de medios hermanos (FMH). Los resultados indicaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las FMH en todos los caracteres a excepción del número de macollos en la segunda fecha de medición y el peso de mil semillas.

**Tabla 5.4:** Comportamiento promedio de las seis FMH para todos los caracteres morfológicos evaluados. Media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo (Mín), máximo (Máx), valor p del efecto FMH. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), peso de materia seca (PMS), emergencia de espiga (IE), número de espiga (Nesp), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

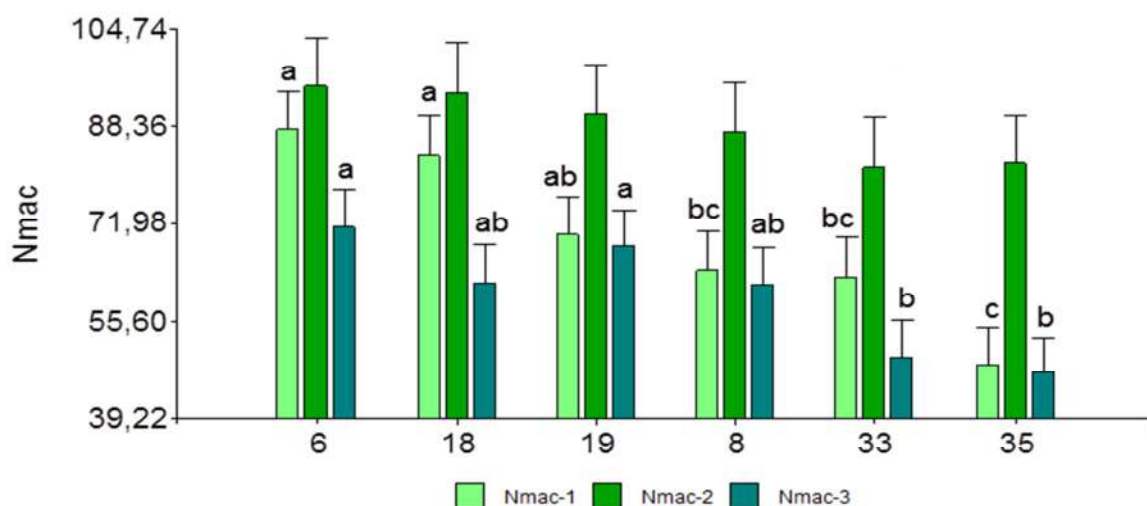
Variable	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Valor p FMH
Alt-1 (cm)	51,78	10,7	20,67	31,2	100,0	0,0015
Alt-2 (cm)	24,18	6,31	26,08	13,1	50,5	<0,0001
Alt-3 (cm)	97,59	12,93	13,24	64,0	130,0	0,027
Nmac1	69,19	32,3	46,69	12,0	160,0	0,0003
Nmac2	88,44	37,77	42,7	20,0	232,0	0,7817
Nmac3	59,98	29,29	48,83	4,0	152,0	0,0272
PMS (g)	18,92	11,76	62,15	1,0	86,0	0,0286
IE (días)	96,32	4	17,10	89,4	102,5	<0,0001
Ne	51,8	29,61	57,17	3,0	136,0	0,0017
PMIL (g)	5,48	1,09	19,94	0,5	8,0	0,1880
PSEM (g)	5,8	4,16	71,72	0,1	19,8	0,0034

La altura de planta (Alt) fue variable de acuerdo a la fecha de medición. Para la primera fecha (Alt-1) se destaca la FMH 33, mientras que para la segunda fecha (Alt-2) se destacan en altura las FMH 18 y 6, en la tercera fecha de medición (Alt-3) la mayor altura la presentaron las FMH 33, 18 y 6. La FMH 35 fue la que presentó menor valor de altura para todas las fechas de medición (Figura 5.3).



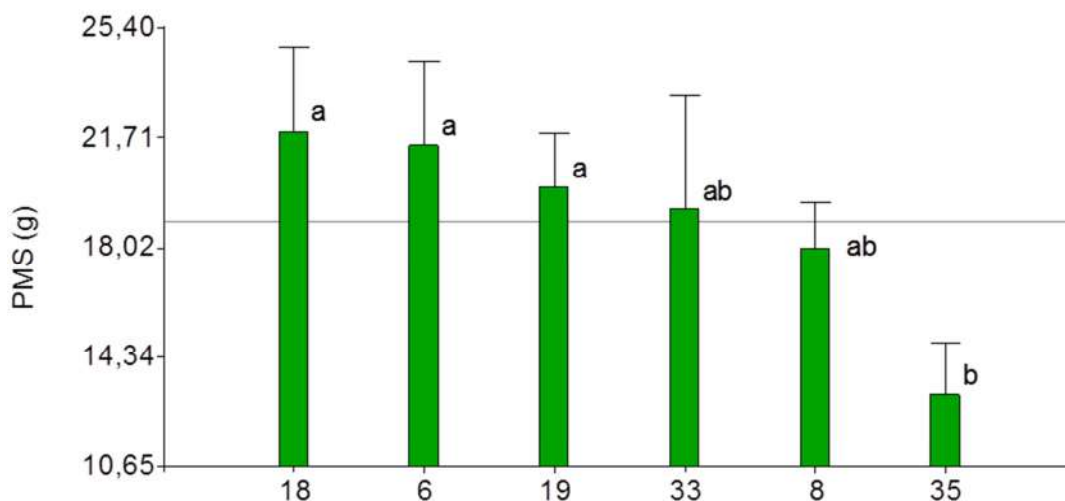
**Figura 5.3:** Altura de planta (Alt) promedio en cm por FMH y error estándar (E.E. en barras), para las tres fechas de medición (Alt-1, Alt-2, Alt-3). Letras distintas en la misma fecha, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Para el número de macollos (Nmac) también se observó comportamiento diferencial de las FMH de acuerdo a la fecha de medición. Para la primera fecha de medición (Nmac1) las FMH 6 y 18 lograron el mayor número, mientras que para la segunda fecha (Nmac2) no hubo diferencias significativas en la cantidad de macollos y para la última fecha de medición (Nmac3) se destacaron las FMH 6 y 19. La FMH 35 fue la que presentó menor número de macollos en todas las fechas (Figura 5.4).



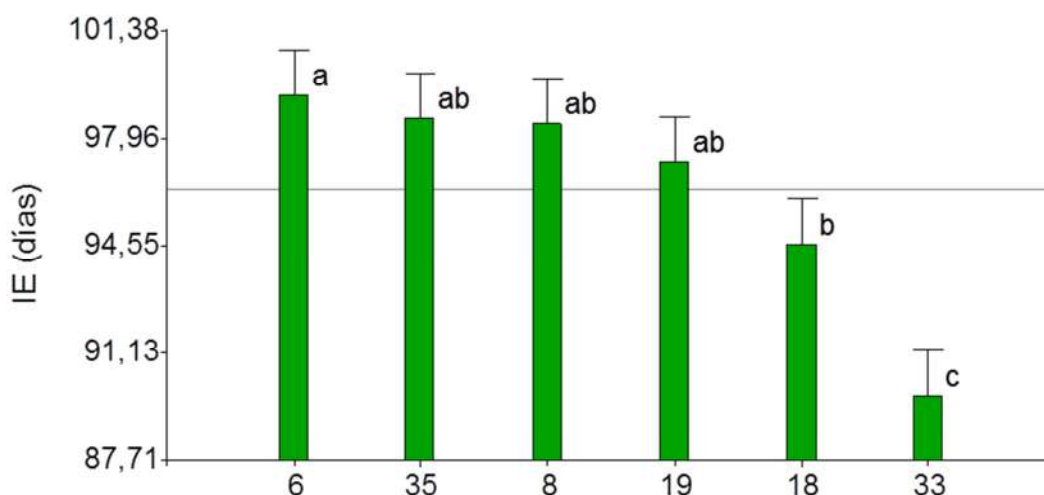
**Figura 5.4:** Número de macollos (Nmac) promedio por FMH y error estándar (E.E. en barras), para las tres fechas de medición (Nmac1, Nmac2, Nmac3). Letras distintas en la misma fecha, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), mientras que la ausencia de letras indica que no hubo diferencias significativas.

Para la producción de materia seca (PMS) acumulada de otoño-invierno las FMH más productivas fueron: 18, 6 y 19, mientras que la de menor producción fue la FMH 35 (Figura 5.5).



**Figura 5.5:** Peso de materia seca (PMS) promedio en gramos por FMH y error estándar (E.E. en barras), la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

En cuanto al inicio de emergencia de espigas (IE) en días se observó claramente que las FMH 6, 35, 8, 19 fueron de tardías a intermedias, mientras que la FMH 33 fue la más precoz (Figura 5.6).



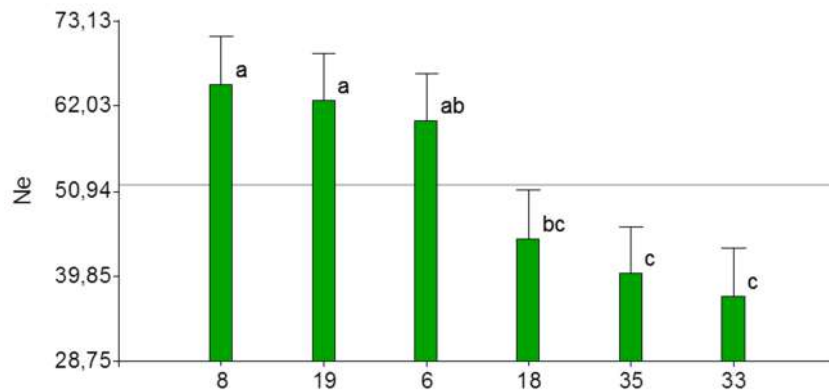
**Figura 5.6:** Inicio de emergencia de espiga (IE) en días desde el 01/09 y error estándar (E.E. en barras), la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Para los componentes de rendimiento de semilla: número de espigas (Ne), peso de mil semillas (PMIL) y peso total de semilla (PSEM), se observó que las FMH 8

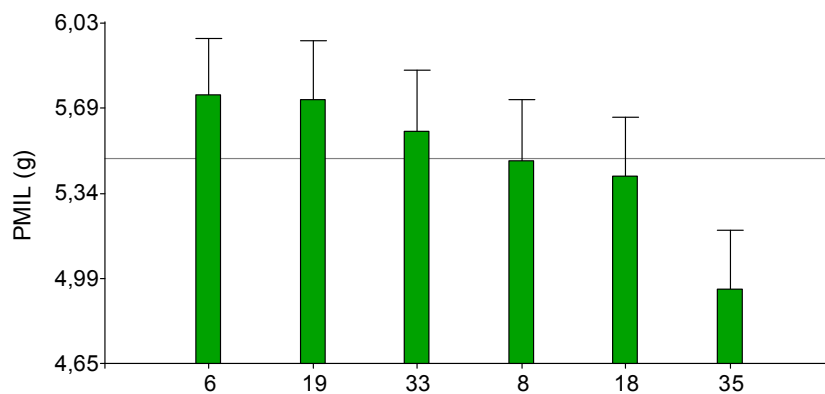


y 19, presentaron los mayores valores de Ne, mientras que las FMH 35 y 33 los menores valores. Para el PMIL no hubo diferencias significativas entre las FMH, sin embargo se observó que las FMH 6, 19 y 33 presentaron valores superiores a la media. Para la PSEM, las FMH 19, 6, 8 y 18 fueron las que presentaron mayores valores, y la FMH 33 fue la de menor PSEM (Figura 5.7)

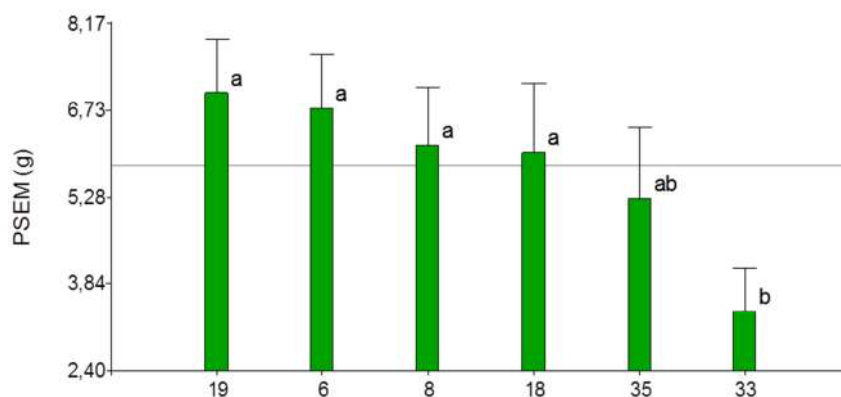
a)



b)

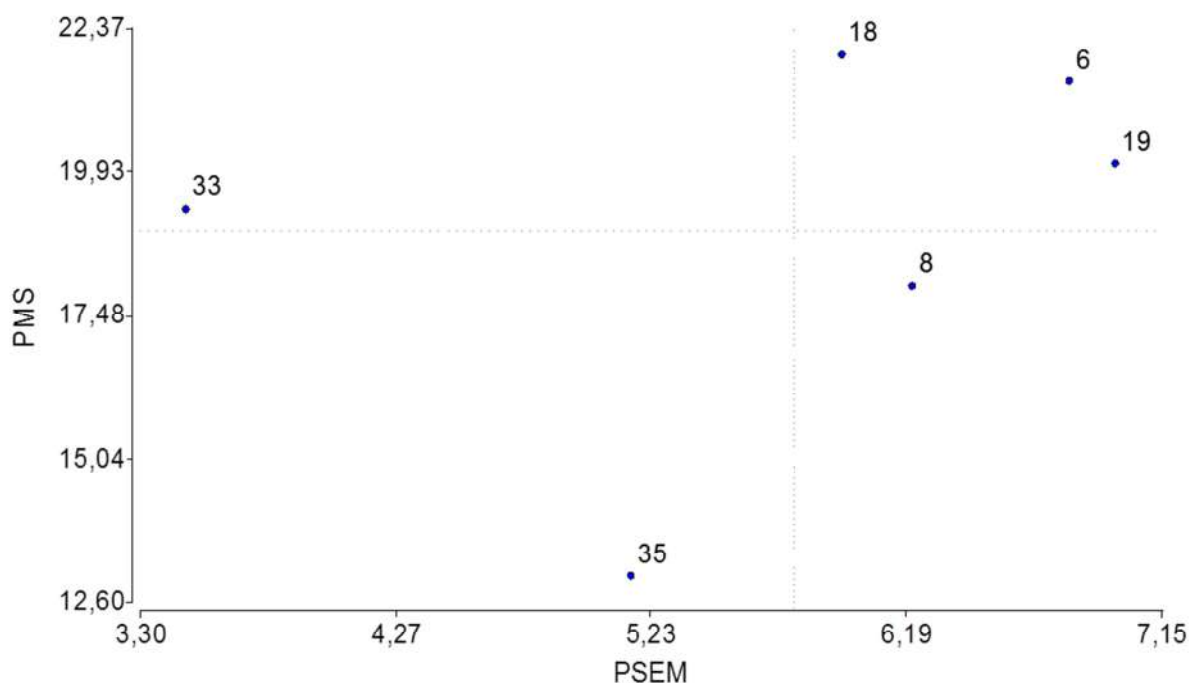


c)



**Figura 5.7:** a) Número de espigas (Ne), b) Peso de mil semillas (PMIL) en gramos y c) Peso de semillas totales (PSEM) en gramos, promedio por FMH, la línea corresponde a la media. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD;  $p < 0,05$ ), ausencia de letras implica que no presentó diferencias significativas.

En la figura 5.8 se observa el gráfico de dispersión de las seis FMH en para el peso de materia seca y la producción total de semillas. Se observó que las FMH 6, 18 y 19 fueron las más productivas, mientras que las FMH 35 y 33 fueron las menos productivas para producción de materia seca y semillas respectivamente.

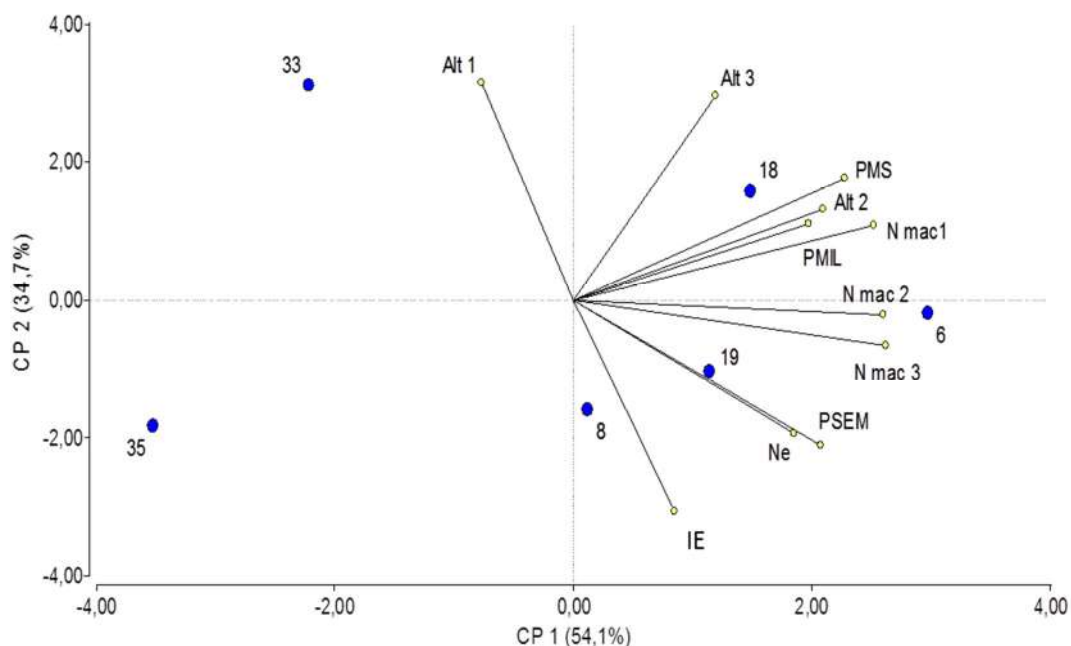


**Figura 5.8:** Biplot producción de materia seca (PMS) en gramos y producción total de semillas (PSEM) en gramos.

## 2. Análisis Multivariado

### 2.1 Componentes Principales

Al realizar el análisis de componentes principales, considerando los 11 caracteres analizados, se observó que las primeras componentes explican el 89% del total de la variación. Al construir la componente principal 1 (CP1), el carácter número de macollos para las tres fechas de medición explicó la mayor variabilidad (Tabla 5.5). Las FMH 6, 18 y 19 fueron las de mayor número de macollos, y contrariamente los genotipos 33 y 35. Al construir la segunda componente principal (CP2) las variables altura a la primera fecha e inicio de emergencia, explicaron la mayor variabilidad. La FMH 33 fue la que más altura presentó y más precoz (Figura 5.9).



**Figura 5.9:** Biplot del análisis de componente principales para las seis FMH y las 11 variables analizadas. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), producción de materia seca (PMS), emergencia de espigas (IE), número de espigas (Ne), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

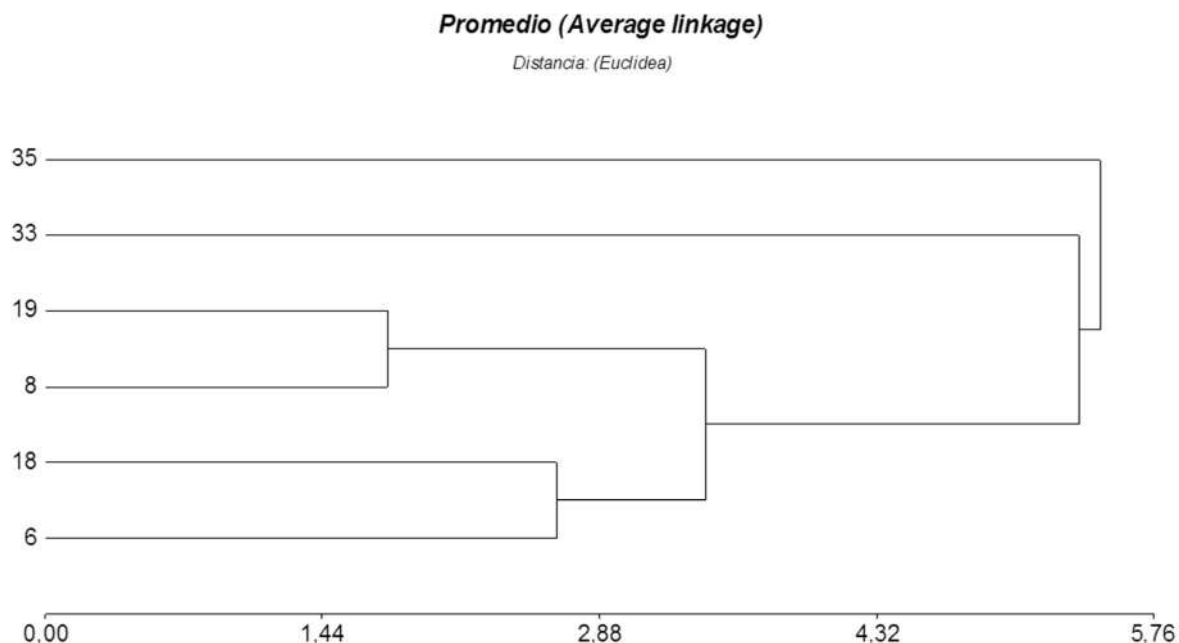
**Tabla 5.5:** Autovalores y autovectores para el análisis de componentes principales. Altura (Alt), número de macollos (Nmac), producción de materia seca (PMS), emergencia de espigas (IE), número de espigas (Ne), peso de mil semillas (PMIL), peso total de semillas (PSEM).

Autovalores				Autovectores		
Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum	Variables	e1	e2
1	5,95	0,54	0,54	Alt-1	-0,12	0,47
2	3,82	0,35	0,89	Alt-2	0,32	0,2
3	1	0,09	0,98	Alt-3	0,18	0,45
4	0,15	0,01	0,99	Nmac1	0,38	0,16
5	0,09	0,01	1	Nmac 2	0,39	-0,03
6	0	0	1	Nmac 3	0,4	-0,1
7	0	0	1	PMS	0,34	0,27
8	0	0	1	IE	0,13	-0,46
9	0	0	1	Ne	0,28	-0,29
10	0	0	1	PMIL	0,3	0,17
11	0	0	1	PSEM	0,31	-0,32

## 2.2 Análisis de Conglomerados

Por otro lado, se realizó el análisis de conglomerados jerarquizado mediante el método encadenamiento promedio (average linkage) y la distancia euclídea, para las

seis FMH discriminados por las 11 variables mencionadas para el análisis de CP. Al 50% de la distancia planteada (2,88) se observaron cuatro subgrupos o clusters dentro de los cuales los genotipos que los conforman cuentan con perfiles morfo-fisiológicos con mayor grado de similitud para todas las variables incluidas, la correlación cofenética para este análisis fue 0,991 (Figura 5.10).



**Figura 5.10:** Análisis de conglomerados para las seis FMH y las 11 variables analizadas.

### 3. Comportamiento de las FMH a campo: Heredabilidad en sentido estricto.

En general las estimaciones de los componentes de la variancia: variancia genotípica familiar ( $\sigma^2_F$ ) y variancia ambiental ( $\sigma^2_e$ ), y la heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) fueron variables y elevados para todos los caracteres a excepción del número de macollos a la segunda fecha de medición (Nmac2) (Tabla 5.6). El mayor valor de  $h^2$  lo presentó el inicio de emergencia, seguido por los valores de altura a la primera y segunda fecha de medición. En tanto que el peso de semillas y el número de espiga presentaron valores similares y elevados. El peso de producción de materia seca fue intermedio.

**Tabla 5.6:** Varianza familiar ( $\sigma^2_F$ ), Varianza ambiental ( $\sigma^2_e$ ) y heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) para los 11 caracteres analizados en las seis FHM. Altura (Alt-1, Alt-2, Alt3), Número de macollos (Nmac1, Nmac2, Nmac3), Producción de materia seca (PMS), Emergencia de espigas (IE), Número de espigas (Ne), Peso de mil semillas (PMIL), Peso total de semillas (PSEM).

<b>Carácter</b>	<b><math>\sigma^2_F</math></b>	<b><math>\sigma^2_e</math></b>	<b><math>h^2 = \frac{\sigma^2_F}{(\sigma^2_F + \sigma^2_e/r)}</math></b>
Alt-1	17,89	18,92	0,74
Alt-2	9,49	8,53	0,77
Alt-3	9,00	35,28	0,43
Nmac1	100,40	355,70	0,46
Nmac2	0,00	266,67	0,00
Nmac3	49,28	173,98	0,46
PMS	3,88	24,40	0,32
IE	10,76	6,81	0,83
NE	79,92	216,09	0,53
PMIL	0,01	0,24	0,09
PSEM	1,06	2,53	0,56

## DISCUSIÓN

En el mejoramiento de especies forrajeras destinadas a condiciones marginales, el rendimiento es de importancia secundaria respecto a la adaptación. A menudo existe una relación negativa entre los caracteres que confieren adaptación al estrés y la producción de materia seca y semillas. En *Chloris gayana* una gramínea forrajera apta para cultivo en zonas subtropicales afectadas por salinidad y ampliamente utilizada en el Chaco Semiárido argentino, la tolerancia a la salinidad indujo mermas considerables en su rendimiento, por reducciones en el crecimiento foliar y en la proporción de hojas secas (de Luca *et al.*, 2001). Sin embargo, existen investigaciones realizadas en poblaciones naturalizadas de especies forrajeras, provenientes de ambientes restrictivos con exceso de sales y sequía, que demostraron un comportamiento agronómico superior de la descendencia de dichas poblaciones respecto a cultivares mejorados. Algunas respuestas se sustentan en que dentro de determinadas especies la adaptación a nichos ecológicos particulares, ha sido producto de la selección natural. Entre los factores que promueven la adaptación se consideran el sistema reproductivo de la especie, su fondo genético y los factores ambientales que prevalecen en dicho nicho (Imam y Allard, 1965; Snaydon y Davies, 1972; Bradshaw, 1984; Smith *et al.*, 1994).

El presente capítulo abordó el comportamiento agronómico de las seis familias tolerantes al halomorfismo seleccionadas a través de los capítulos anteriores. Los resultados demostraron que, si bien la mayoría de las familias presentaron buen comportamiento productivo en forraje y semillas, se destacaron tres de ellas (FMH: 18, 6, 19) por su mayor producción y otras dos (FMH: 33 y 35) por su menor producción.

### **1. Comportamiento agronómico de las familias selectas a campo**

El cultivo de agropiro alargado es de desarrollo inicial lento, luego forma grandes matas y produce abundante forraje. En condiciones favorables crece activamente en primavera, verano y otoño, mientras que en invierno su crecimiento es poco activo por efecto de las bajas temperaturas. La máxima densidad de macollos se produce en la etapa vegetativa, con valores de 3500 macollos/m<sup>2</sup>, cuando la pastura alcanza un equilibrio entre los procesos de muerte y recambio, para luego disminuir en elongación hasta llegar a 1100 macollos/ m<sup>2</sup> en antesis, debido a la inhibición impuesta por el desarrollo de las estructuras reproductivas (Fernández y Alonso, 2000). Las seis FMH evaluadas en este capítulo evidenciaron diferencias fenotípicas en la mayoría de los caracteres agronómicos evaluados en su primer año de producción. Las FMH 18, 6

y 19 fueron las que presentaron los valores más elevados de altura de planta y el número de macollos en las tres mediciones; ambos caracteres están asociados a la aptitud forrajera de la especie y el rendimiento de forraje (Bertin, 1993; Guillén, 2002; Borrajo *et al.*, 2004). Si bien la producción de forraje otoño-invernal del primer año del cultivo no siempre se correlaciona con la producción de los años subsiguientes (Maddaloni y Bertín, 1990), los resultados obtenidos indican la necesidad de continuar evaluando las FMH durante los años posteriores para confirmar esta tendencia.

La producción de semillas es un carácter altamente dependiente del ambiente (Bugge, 1984; Elgersma *et al.*, 1989; Bertín, 2004), y está determinado por la precocidad a floración, el número de espigas por planta y el peso de mil semillas (Bertín *et al.*, 1987; Smith *et al.*, 1994; Castaño, 2005; Abbott *et al.*, 2009). En agropiro el inicio de floración, en el norte de la Provincia de Buenos Aires, se produce hacia fines de noviembre, con una importante proporción de espigas emergidas hacia mediados de diciembre, y con un pico de anthesis hacia mediados de enero. La maduración de los granos se produce entre los meses de febrero y marzo (Covas, 1959; Maddaloni y Bertín, 1990; Harrison *et al.*, 2001). La producción de semilla es muy variable, dependiendo de las condiciones ambientales y los rendimientos promedios nacionales son de 150 kg/ha de semilla, aunque con buen manejo es posible obtener entre 300 y 400 kg/ha (Castaño, 1995). Trabajos realizados en el norte de la provincia de Buenos Aires (Maddaloni y Bertín, 1990), han demostrado que los rendimientos de semilla varían entre 200 y 300 kg/ha, dependiendo del año de cosecha y del nivel de nutrientes en otoño y primavera. Durante el primer año del cultivo los rendimientos suelen ser intermedios a bajos, dependiendo de la latitud (Maddaloni y Bertín, 1990; Castaño, 2005). En el presente estudio el índice de emergencia de espigas discriminó las FMH en tempranas (FMH 33) e intermedias (FMH 35, 8, 19); los valores medios del peso de mil semillas (5,48 g) y del peso total de semillas por planta (5,8 g) fueron muy bajos, comparativamente con el comportamiento de las variedades en el mercado (peso de mil: 6 a 8 g); sin embargo, el rango de valores entre las plantas fue muy amplio y se detectaron genotipos con elevado peso de mil (8 g) y elevado peso total de semillas (19,8 g). Estos valores indicarían una amplia variabilidad intrafamiliar factible de ser seleccionada. En términos generales las FMH con mayor rendimiento fueron 6, 18 y 19, y si bien estos resultados son alentadores, los estudios del comportamiento agronómico de estas FMH debieran continuarse.

## **2. Heredabilidad en sentido estricto de los caracteres de producción**

Los programas de mejoramiento genético convencionales se han sustentado en la estimación de parámetros genéticos sobre caracteres agronómicos, para delinear las diferentes etapas y poder formular criterios de selección (Gardner, 1963; Dudley y Moll, 1969). La selección aplicada puede ser en base a la media familiar o en base individual. Cuando se mejoran especies alógamas, con niveles de ploidía complejos como el agropiro ( $2n=7x=70$ , aloploidio) la segregación intra-familiar suele ser elevada y por lo tanto las estimaciones de los parámetros genéticos suelen ser variables. En particular la heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) es la varianza genética aditiva en relación a la varianza genética total y su valor radica en su uso para estimar el progreso que se puede obtener a través de la selección y recombinación de los mejores individuos de una población (Hill, 1977; Nguyen y Sleper, 1983; Bernardo, 2002; Acquah, 2012). En el presente capítulo, se observaron valores intermedios a elevados de heredabilidad en sentido estricto en los caracteres que expresaron diferencias significativas entre las FMH. Para los caracteres de mayor valor agronómico asociados al rendimiento de forraje se observaron valores medios, mientras que para los que estuvieron asociados a la producción de semillas se observaron valores altos ( $h^2=64$ ) en promedio (Stanfield, 1971). De este modo se considera factible de seleccionar por los caracteres mencionados y esperar que se vean reflejados en su descendencia.



## CONCLUSIONES

---

Los resultados obtenidos en el presente capítulo permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- Las familias tolerantes al halomorfismo se diferenciaron significativamente en los caracteres agronómicos de producción de forraje y de semilla en condiciones de crecimiento a campo.
- Las familias 6, 18 y 19 fueron las más productivas en forraje y semilla.
- La heredabilidad en sentido estricto (estimada sobre la varianza genética aditiva) logró valores intermedios a elevados en los caracteres agronómicos de interés, indicando posibilidades de avanzar en la selección.

## CONCLUSIONES FINALES

---

### Conclusiones a nivel poblacional:

- Los resultados obtenidos en el presente estudio indicaron la presencia de elevada variabilidad genética entre los genotipos de la población para todos los caracteres morfológicos evaluados.
- Se realizó la puesta a punto y transferencia de marcadores moleculares (SSR) de *Lolium perenne*, *Schedonorus arundinaceus* y *Triticum aestivum* a *Thinopyrum ponticum*, Este resultado es de gran utilidad en la especie dada la poca información genómica propia de la misma.
- El abordaje conjunto de ambas caracterizaciones: morfológica y molecular evidenció la utilidad de ambas técnicas en el proceso de caracterización de genotipos en etapas tempranas de programas de mejoramiento genético.
- Bajo condiciones de halomorfismo en hidroponia, la población presentó un comportamiento diferencial en caracteres morfo-fisiológicos que permitieron agruparlos como tolerantes y susceptibles.
- El ambiente salino-sódico redujo el crecimiento de los genotipos para todos los caracteres evaluados.
- La aplicación del modelo AMMI, permitió discriminar los genotipos acordes a su estabilidad en todos los ambientes considerando la producción de materia seca acumulada. De esta forma se detectaron genotipos tolerantes y superiores productivamente en determinados ambientes: 9, 14, 15 y 18 en control, 17, 21, 22, y 35 en salino; 2, 7 y 34 en sódico y 10, 27 y 33 en salino-sódico; y otros que mostraron estabilidad en todos los ambientes: 3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 30, 31, 34.
- La población estudiada expresó un elevado componente plástico heredable, destacándose los elevados valores correspondientes a la producción de materia seca.
- En programas de mejoramiento genético cuyo objetivo es obtener cultivares destinados a distintos tipos de suelo, los genotipos a seleccionar para suelos salinos serían 17, 21, 22, y 35; para suelos sódicos serían 2, 7 y 34, y para suelos salino-sódicos serían el 10, 27 y 33.
- Si el programa de mejoramiento genético tuviera como objetivo obtener cultivares multiambientales, o destinados a suelos heterogéneos, los genotipos

que mayor estabilidad presentaron fueron: 3, 6, 8, 10, 11, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 30, 31, 34.

### **Conclusiones a nivel familiar:**

- Bajo condiciones de halomorfismo en hidroponía, las 12 FMH (5, 6, 7, 8, 13, 17, 18, 19, 29, 33, 35) evaluadas presentaron un comportamiento diferencial en caracteres morfo-fisiológicos que permitieron agruparlos como tolerantes y susceptibles.
- La variabilidad fenotípica observada expresó un componente genético diferencial que dependió del ambiente. Las mayores  $h^2$  se obtuvieron en los ambientes halomórficos, indicando que la selección debe realizarse por ambiente.
- El ambiente salino-sódico redujo el crecimiento de las FMH para todos los caracteres evaluados en diferentes fechas de medición.
- Las FMH 6, 18, 35, 8, 19 y 33 fueron seleccionadas por ser tolerantes y altamente productivas y mostraron muy buen comportamiento agronómico a campo.
- Las FMH 6, 8 y 18 fueron las de mayor rendimiento en producción de forraje y de semilla.

### **Variables para utilizar para seleccionar por tolerancia al halomorfismo:**

- La producción de materia seca fue una de las variables que mejor expresó el crecimiento de los genotipos y FMH en halomorfismo, y fue indicadora de la tolerancia al estrés.
- El Índice de tolerancia discriminó entre genotipos y FMH con mayor tolerancia en los ambientes salino y sódico
- La relación  $K^+/Na^+$ , permitió discriminar entre genotipos y FMH lograron una mejor relación  $K^+/Na^+$ , ya sea por mantener los niveles de  $K^+$  estable y/o la menor concentración de  $Na^+$ .
- El contenido relativo de agua permitió detectar las FMH tolerantes con mayor capacidad de ajuste osmótico ante la disminución del potencial hídrico en halomorfismo

- El Índice de tolerancia discriminó entre genotipos y FMH con mayor tolerancia en los ambientes salino y sódico.
- La concentración de  $Mg^+$  fue indicador de diferencias entre los genotipos y las FMH con mayor capacidad fotosintética en condiciones de estrés halomórfico

## BIBLIOGRAFIA

---

- Abbott, L., Pistorale, S.; Andrés, A., 2009. Evaluación de los componentes del rendimiento en semilla mediante coeficientes de sendero en poblaciones de agropiro alargado. *Agriscientia*, 26(2), 55-62. Recuperado en 26 de enero de 2019,
- Abbott, R. J., 1976. Variation within common groundsel, *senecil vulgaris* L. ii. local differences within cliff populations on puffin island. *New Phytologist*, 76(1), 165-172.
- Acevedo, E., Silva, H.; Silva, P. 1998. Tendencias actuales de la investigación de la resistencia al estrés hídrico de las plantas cultivadas. *Boletín Técnico Estación Experimental Agronómica*, 49 (1-2): 1-28.
- Acquaah, G., 2012. Principles of plant genetics and breeding. 2nd ed. ISBN 978-0-470-66476-6.
- Acuña, M., 2009. Variabilidad genética en poblaciones naturalizadas de *Lolium multiflorum* (Lam.). Tesis de Maestría en Genética Vegetal. UNR-INTA. 146pp
- Acuña, M., Andrés, A., Varea, I. y Lavandera, J., 2009. Vigor de plántula en poblaciones naturalizadas de agropiro alargado. Actas 1º Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Córdoba 11 al 13 de marzo. UCC. Pág 40
- Acuña, M.L., Barrett, F., Pistorale, S.M., Cattoni, M.I., Camarasa, J., Grunberg, K., Andrés, A.N., 2014. Evaluación de la producción y la calidad de forraje de *Thinopyrum ponticum* en diferentes sustratos salinos". 37º Congreso Argentino de Producción Animal. 2nd Joint Meeting American Society of Animal Science. Asociación Argentina de Producción Animal. XXXIX Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Pontificia Universidad Católica Argentina, 20 al 22 de octubre de 2014-C.A.B.A, Argentina.
- Aello, M.;Gómez, P., Di Macro, O., y Matinata, L., 1983. El agropiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. II. Dinámica de la pastura durante la primera clausura otoñal. *Producción Animal* (Buenos Aires, Argentina) 10:343-356.
- Affinito, A., 2014. Caracterización de la variabilidad genética a nivel morfo-fisiológico y molecular de Familias de Medio-Hermanos de *Lotus tenuis* tolerantes a

salinidad. Trabajo final de grado para optar al título de Ingeniero agrónomo. UNNOBA. 96 pág.

- Agarwal, P. K., Agarwal, P., Reddy, M. K., and Sopory, S. K., 2006. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports*. 25(12), 1263-1274.
- Akbar, M. and Yabuno, T., 1977. Breeding saline resistant varieties of rice. IV. Inheritance of delayed type panicle sterility induced by salinity. *Japanese Journal of Breeding* 27 (3), 237-240.
- Alderson, J., and Sharp, W. C., 1994. Grass varieties in the United States. Agriculture handbook (United States. Dept. of Agriculture)(USA).
- Alemán Guillén, F., 2009. Absorción de K<sup>+</sup> en plantas con diferente tolerancia a la salinidad. Tesis Doctoral de Universidad de Murcia, España.
- Al-Ghumaiz, N. S. , Abd-Elmoniem, E. M. and. Motawei, M. I., 2017 Salt Tolerance and K/Na Ratio of Some Introduced Forage Grass Species Under Salinity Stress in Irrigated Areas, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48:12, 1494-1502
- Ali A, Khan S, Asad MA., 2002. Drought tolerance in wheat: Genetic variation and heritability for growth and ion relations. *Asian J. Plant Sci.*, 1: 420-422.
- Al-Khatib, M.; Mcneilly, T. and Collins, J. C.,1993. The potential of selection and breeding for improved salt tolerance in Lucerne (*Medicago sativa* L.). *Euphytica* 65: 43– 51.
- Allen, S. K., Dobrenz A. K., Schonhorst, M. H. and Stoner, J. E., 1985. Heritability of NaCl tolerance in germinating alfalfa seeds. *Agronomy Journal*: 77: 90– 96.
- Alonso, S. y Borrajo, C., 1999. Colecta y evaluación inicial de poblaciones de agropiro alargado naturalizadas en la región pampeana.
- Alonso, S.; Borrajo, C., Fernandez, J. y Echeverria, J., 1998. Efecto del nitrógeno sobre la producción y calidad del forraje estivo – invernal en materiales de agropiro. *Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18 supl. 1. 21º Congreso Argentino de Producción Animal (Río Cuarto, Córdoba)*, 158 pp.
- Alonso, S.; Borrajo, C., Strada, J., Rivarola, y Suárez, J., 1997. Variabilidad y efecto genético-ambiental en poblaciones de agropiro alargado. *Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 17 supl.1. 21º Congreso Argentino de Producción Animal y II Congreso Uruguayo de Producción Animal (Paisandú, Uruguay)*, 169 – 170 pp.

- Álvarez, G., 2010. Estimación de parámetros genéticos en familias de medios hermanos de raigrás anual diploide (*Lolium multiflorum* Lam.). Tesis final de grado para optar al título de Licenciado en Genética, UNaM. 80pp
- Amacher, J.K., Koenig, R., Kitchen, B., 2000. Salinity and plant tolerance. [https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1042&context=extension\\_histall](https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1042&context=extension_histall)
- Andrés A. y Guillén R., 2001. Variabilidad en el crecimiento de plántulas de agropiro alargado con diferentes peso de mil semillas. Journal of Basic and applied Genetics. Actas XXX Congreso Argentino de Genética. IV Jornadas Argentino Uruguayas de Genética. Pp. 106 - 107.
- Andrés A., 2001. Posibilidades de mejoramiento en agropiro alargado: avances en la generación de nuevos cultivares. Reunión anual sobre forrajeras: "Una mirada hacia los suelos ganaderos". INTA Pergamino. Pp. 15 – 24.
- Andrés A., 2007. Tobiano INTA, nuevo cultivar de agropiro alargado desarrollado por INTA Pergamino. Acción rural N° 69. Pp. 37 - 38.
- Andrés A., Pistorale, S. y Maciel M. A., 2013. Heredabilidad de la producción de semilla en familias de *Thinopyrum ponticum*. Revista Argentina de Producción Animal. Vol. 33 suplemento 1. 36° Congreso Argentino de Producción Animal. Corrientes. Pp. 240.
- Andrés A., Rosso B. y Ruiz Diaz, 1998. Caracterización morfológica y fitopatológica de materiales de pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.) pertenecientes al banco activo de germoplasma de la EEA Pergamino INTA. XVI Seminario Panamericano de Semilla. Pp. 71.
- Andrés, A., 1987. Variabilidad genética en poblaciones naturales de *Agropyron scabrifolium* (Doell.) Parodi. Tesis de Ms. Sc. Pergamino INTA-UNR Curso de Posgrado en Mejoramiento Vegetal.
- Andrés, A., 1991. The ecological genetics of *Poa trivialis* L. Tesis doctoral, University of reading
- Argentel, L, López, R. C, Fonseca, I, Girón, R, Gómez, E, González, L. M, and López Aguilar, D. R., 2009. Chlorophyll content and ions of a bread wheat variety Cuba-C-204 under salinity stress conditions. Cultivos Tropicales, 30(4), 00.
- Arzani, A. 2008. Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 44(5), 373-383.

- Ashkan A and Jalal M., 2013. Effects of salinity stress on seed germination and seedling vigor indices of two Halophytic plant species (*Agropyron elongatum* and *A. pectiniforme*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(22):2669-2676
- Ashraf, M and Akram,N., 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: An analytical comparison. Biotechnology Advances 27, 744-752.
- Ashraf, M., 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Science. 13: 17-42.
- Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora 199: 361-376.
- Ashraf, M. A., Ashraf, M., and Ali, Q., 2010. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf peroxidation and phenolic contents. Pakistan Journal of Botany. 42(1): 559-565, 2010.
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science. 166, 3-16..
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C., 2005. Abiotic stresses: Plant resistance through breeding and molecular approaches. Haworth Press, New York.
- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Env. Exp. Bot., 59: 206-216.
- Ashraf, M., 2002. Salt tolerance of cotton: some new advances. Critical Reviews in Plant Science. 21(1): 1-30.
- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances. 27, 84–93.
- Ashraf, M., and McNeilly, T., 1988. Variability in Salt Tolerance of Nine Spring Wheat Cultivars. Journal of Agronomy and Crop Science, 160(1), 14–21.
- Ashraf, M., and Rauf, H., 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays L.*) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages. Acta Physiologiae Plantarum, 23(4), 407–414.
- Ashraf, M., Athar, H. R., Harris, P. J. C., and Kwon, T. R., 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. Advances in Agronomy, 97, 45-110.
- Ashraf, M., McNeilly, T., and Bradshaw, A. D., 1986a. The potential for evolution of salt (NaCl) tolerance in seven grass species. New Phytologist, 103(2), 299-309.



- Ashraf, M., McNeilly, T., and Bradshaw, A. D., 1987. Selection and Heritability of Tolerance to Sodium Chloride in Four Forage Species 1. *Crop Science*, 27(2), 232-234.
- Ashraf, M., McNelly, T., and Bradshaw, A. D., 1986b. Heritability of NaCl tolerance at the seedling stage in seven grass species. *Euphytica*, 35(3), 935-940.
- Ashraf, M., Zafar, Z. U., and O'leary, J. W., 1995. Genetic variation for salt tolerance in sunflower (*Helianthus annuum* L.). *Hereditas*, 123(2), 141-145.
- Baker, H. G., 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. *Characteristics and modes of origin of weeds.*, 147-72.
- Balzarini, M., Di Rienzo, J., Tablada, M., Gonzalez, L., Bruno, C., Córdoba, M., Casanoves, F., 2015. *Estadística y Biometría Ilustraciones del Uso de InfoStat en Problemas de Agronomía*. 425pp
- Balzarini, M.G. y Di Rienzo, J. A., 2016. InfoGen versión 2016. FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.info-gen.com.ar>.
- Bandera, R., de Andrés, A., Méndez, D, O'Gorman, J.M. y Scheneiter, J.O., 2011. Respuesta a la fertilización con fósforo y nitrógeno de agropiro alargado en suelos ganaderos del norte de la Pcia de Bs. As. 21-24. En: *Fertilización en pasturas*. Editores: D. Méndez y O. Scheneiter. Ediciones INTA
- Banks, P.M., Xu, S.J., Wang, R.R.-C., and Larkin, P.J., 1993. Varying chromosome composition of 56-chromosome wheat×*Thinopyrum intermedium* partial amphiploids. *Genome*, 36:207–215.
- Barbara T, Palma-Silva C, Paggi GM, Bered F, Fay MF, Lexer C., 2007. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. *Molecular Ecology*. 16 (18): 3759-3767. 10.1111/j.1365-294X.2007.03439.x.
- Barker, R. E., and Kalton, R. R., 1989. Cool-season forage grass breeding: Progress, potentials, and benefits 1. *Contributions from breeding forage and turf grasses, (contributionsfr)*, 5-20.
- Barker, R., and Warnke, S., 2001. Application of molecular markers to genetic diversity and identity in forage crops. *Molecular breeding of forage crops*. Chapter 7: 135-148.
- Barrett, S.C.H. and Kohn, J.R., 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population sizes in plants: Implications for conservation. In: Falk, D.A. and

- Holsinger, K.A., Eds., Genetics and Conservation of Rare Plants, Oxford University Press, New York, 3-30.;
- Barrs HD., 1968. Determinations of water deficits in plant tissues. In: Kozlowski TT, ed. Water deficits and plant growth, Vol. 1. New York: Academic Press, 235-368
- Barufaldi, M., 1999. Variabilidad genética en poblaciones adaptadas de pasto ovillo
- Bazzigalupi O, Pistorale S, Andrés A., 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). Ciencia e Investigación Agraria. 35 (3):277-285.
- Bazzigalupi, O. y Pistorale, S., 2009. Variabilidad de la tolerancia a la germinación en soluciones salinas de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) producidas en el mismo ambiente. Actas 1º Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Córdoba 11 al 13 de marzo. UCC. P42
- Becerra, V. y Paredes, M., 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. Agric. Téc. p.270-281. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-28072000000300007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072000000300007&lng=es&nrm=iso). ISSN 0365-2807
- Bennett, E., 1970. Adaptation in wild and cultivated populations. In: Genetic resources in plants –their exploration and conservation (IBP Handbook Number 11) Frankel, O.H and Bennett, E (Eds) Blackwell Scientific Publications, Oxford: 115-129.
- Bennett, S. J., Barret-Lennard, E.G. and Colmer, T.D., 2009. Salinity and waterlogging as constraints to saltland pasture production: A review. Agriculture, Ecosystems and Environment 129: 349-360.
- Bernardo, R., 2002. Breeding for quantitative traits in plants(No. 576.5 B523). Stemma Press.
- Bernstein, L., and Hayward, H. E., 1958. Physiology of salt tolerance. Annual Review of Plant Physiology, 9(1), 25-46.
- Bertín, O., 1993. La dinámica de la producción de forraje en agropiro alargado pastoreado con presencia continua o alternada de bovinos. Tesis Maestría en Producción Animal. Universidad Nacional de Mar del Plata. 123 pág.
- Bertín, O., 1999. Rendimiento de forraje de Rye Grass anual (*Loliurn multiflorum*. Lam.) en el período otoño-invernal. Jornada a campo novedades en forrajeras, producción calidad y mejoramiento. Pp: 25-30.

- Bertín, O., 2004. Componentes de rendimiento y producción de semilla de raigrás anual. Revista Argentina de Producción Animal. AAPA. 2004.
- Bertín, O.; Arosteguy, J., Sevilla, G., Martín, F., y Lorenzo, M., 1987. Demografía de hojas y macollas en agropiro alargado bajo diferentes sistemas de pastoreo. Revista Argentina de Producción Animal. Vol 7 (4):347-353.
- Binzel, M.L., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Handa, S., Handa, A.K. and Bressan, R.A., 1987. Solute accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. Plant Physiology. 84 (4), 1408-1415.
- Black, C. A. 1975. Relaciones suelo-planta (No. S 596.7. B5218).
- Bleby, T. M., Aucote, M., Kennett-Smith, A. K., Walker, G. R., and Schachtman, D. P. 1997. Seasonal water use characteristics of tall wheatgrass [*Agropyron elongatum* (Host) Beauv.] in a saline environment. Plant, Cell and Environment, 20(11), 1361-1371.
- Bohnert H.J. and Jensen R.G., 1996. Metabolic engineering for increased salt tolerance-the next step. Australian Journal of Plant Physiology 23: 661-667.
- Borrajo C. y Reigosa Roger M., 2008. Efecto de la salinidad en poblaciones de agropiro alargado. Rev. Arg. Prod. Animal Vol. 28 supl. 1. 31° Congreso Argentino de Producción Animal (San Luis). Pp. 456.
- Borrajo, C y Alonso, S., 2000. Potencial de producción de semilla en materiales de agropiro. Rev. Arg. Prod. Animal Vol. 20 Sup. 1 – 23° Congreso AAPA.
- Borrajo, C. I., 1998. Generación y expansión de los órganos foliares de agropiro alargado en función del material genético y la disponibilidad de nitrógeno. MSc thesis, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.
- Borrajo, C., Alonso, S. y Echeverria, H., 1998. Componentes del IAF en materiales de agropiro alargado y efecto de la nutrición nitrogenada. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18 supl. 1. 22° Congreso Argentino de Producción Animal (Río Cuarto, Córdoba). Pp 157.
- Borrajo, C., Alonso, S., Mazzantti, A. y Echeverria, H., 1997. Caracterización de germoplasma de agropiro. Variables estructurales y calidad de forraje. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 17 supl.1, 21° Congreso Argentino de Producción Animal y 2° Congreso Uruguayo de Producción Animal (Paisandú, Uruguay), pp 234-235.

- Borsani, O., Valpuesta, V., and Botella, M. A., 2003. Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73: 101-115.
- Botella M., Martinez, V., Pardines, J., Cerdá, A., 1997. Salinity induced potassium deficiency in maize plants. *Journal of Plant Physiology* . Volume 150, Issues 1–2, 1997, Pages 200-205
- Bradshaw, A. D., 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in genetics* (Vol. 13, pp. 115-155). Academic Press.
- Bradshaw, A. D., 1984. Ecological significance of genetic variation between populations. In: *Perspectives on plant population ecology*, Dirzo, R y Saukhán J.(eds). Sinauer Associates Inc. Sunderland, U.S.A.. pp, 213-228.
- Bramardi, J.S., 2000. Estrategias para el análisis de datos en la caracterización de recursos fitogenéticos. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia
- Bramardi, S., Bernet, P., Asins, M y Carbonell., E., 2005. Simultaneous agronomic and molecular characterization of genotypes via the generalized procrustes analysis: an application to cucumber. *Crop Science* 45:1603-1609.
- Brankova, L., S. Ivanov, V. Alexieva and Karanov, E., 2005. Salt induced alteration in the levels of some oxidative parameters and unspecific defence compounds in leaves of two plant species (cotton and bean) with different sensitivity to salinity. *Compt. Rend. De l'Acad. Bulgare des Sci.*, 58(11): 1307-1312.
- Breese, E., y Charles, A., 1962. Populations studies in ryegrass. *Rep.Welsh Plant Breed. Stat.* 1961: 31 3-34.
- Briggs, D. y Walters, S., 1984. *Plant variation and evolution*. Second Edition Cambridge University Press, Cambridge, pp. 412.
- Brown, C., y Jain, S., 1979. Reproductive system and pattern of genetic variation in two *Limnanthes* species. *Theory. Appl. Genetic* 54, pp. 181-190.
- Bugge, G. 1984. Heritability estimates for forage yield, ear emergence and quality characteristics of the dry matter in *Lolium multiflorum* Lam. *Z. Pflanzenzucht.* 92: 321-327.
- Burbidge, A.; Hebblethwaite, P. and Ivins, J., 1978. Lodging studies in *Lolium perenne* grown seed. 2. Floret site utilisation. *J. Agric. Sci. Cambridge* 90: 269 – 274.

- Burton, G. y De Vane, E., 1953. Estimating heredability in tall fescue (*Festuca arundinacea*) from seed. 2. Floret site utilization. *J.Agric. Sci. Cambridge*. 90:269-274.
- Burton, G.W, 1952. Quantitative inheritance in grasses. *Proc 6th Int. Grassland Cong* (1). 227-283
- Canosa, R-, Feldkamp. C., Urruti, J., Morris, M., Moscoso, M.R., 2013. Potencial de la producción ganadera argentina ante diferentes escenarios. file:///D:/MIS%20DOCUMENTOS/Desktop/7.%20BIBLIOGRAFÍA/PAPERS/Trabajo%20final%20Carnes.%20F.Canosa.pdf
- Carbonell, E.A., Pérez-Panadés, J., Bramardi, S.J., Asíns, M.J., 2002. Estudio comparativo de técnicas estadísticas para la caracterización de recursos fitogenéticos mediante marcadores moleculares codominantes multialélicos. II. Distancias genéticas. V Congreso Latinoamericano de Sociedades de Estadística, Buenos Aires, Resúmenes Pág. 47
- Carbonell, E.A., Pérez-Panadés, J., Bramardi, S.J., Asíns, M.J., 2003. Statistical issues in the characterization of genetic resources using multiallelic molecular markers. II Meeting Caribbean and Central American Region of International Biometry Society. Mayagüez, Puerto Rico.
- Casas, R. 2011. Suelos Halomórficos: Importancia y posibilidades de utilización. *Revista de Investigación Agropecuaria*. <http://ria.inta.gov.ar/?p=947>
- Castaño, J., 1995. Producción de semilla de gramíneas forrajeras en el sudeste bonaerense. INTA. CERBAS. Materiales didácticos n° 10. 78 pp.
- Castaño, J., 2005. Producción de semillas de gramíneas forrajeras en el sudeste bonaerense. Material didáctico N° 10, segunda edición. INTA Balcarce, 77pp.
- Cauderon, Y., 1966. Genome analysis in the genus *Agropyron*. *Hereditas*, 2 (Suppl.): 218–234.
- Cauderon, Y., Saigne, B., and Dauge, M., 1973. The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement. *Proc. Int. Wheat Genet. Symp.* 4: 401–407.
- Ceoloni, C., Kuzmanovic, L., Gennaro, A., Forte, P., Giorgi, D., Grossi, R., Bitti, A., 2014. Genomes, Chromosomes and Genes of the Wheatgrass Genus *Thinopyrum*: the Value of their Transfer into Wheat for Gains in Cytogenomic Knowledge and Sustainable Breeding.

- Cerono, J., 1993. Variabilidad genética e identificación varietal en *Festuca arundinaceae* Schreb. cultivar El Palenque MAG. Tesis de Maestría. Curso de Posgrado en Mejoramiento Genético Vegetal. INTA-UNR, pp. 78.
- Chapman, D.F, and Lemaire, G., 1993; Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In Baker, M.J. ed. Grasslands for Our World. SIR Publishing, Wellington. pp. 55-64
- Che ,Y. H., Yang, Y. P, Yang, X.M., Li, X.Q., and Li, L. H., 2011. Genetic diversity between ex situ and in situ samples of *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn. based on simple sequence repeat molecular markers. *Crop & Pasture Science*, 2011, 62, 639–644
- Chen, Q., Friebe, B., Conner, R.L., Laroche, A., Thomas, J.B., and Gill, B.S., 1998b. Molecular cytogenetic characterization of *Thinopyrum intermedium* derived wheat germplasm specifying resistance to wheat streak mosaic virus. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1–7.
- Chen, Q.; Conner, R., Laroche, A., and Chen, Q., 1995. Identification of the parental chromosomes of the wheat-alien amphiploid *Agrotana* by genomic in situ hybridization. *Genome* 38: 6, 1163 - 1169; 38. Chen, Q., Conner, R.L., Ahmad, F., Laroche, A., Fedak, G., and Thomas, J.B., 1998a. Molecular detection of the genome composition of partial amphiploids derived from *Triticum aestivum* x *Thinopyrum ponticum* and *T. Aestivum* x *Th. intermedium* as sources of resistance to wheat streak mosaic virus and its vector, *Aceria tosichella*. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1–8.
- Chilcote, D., Youngberg, H., Young, W., 1984. Growth retardants in grass seed crops. Seed Production Research at Oregon State University. USDA – ARS. Dept. of Crop. Science Ext./ Cr S 54: 25 – 26.
- Colmer TD, Flowers TJ, Munns R. 2006. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*57: 1059–1078.
- Colmer TD, Munns R, Flowers TJ. 2005. Improving salt tolerance of wheat and barley: future prospects. *Australian Journal of Experimental Agricultural*45: 1425–1443
- Cooper, JP y McColl, D., 1966. Energy conversion in the grass plant. Rep. Welsh Plant Breeding Station pp. 12-13.
- Covas, G y Ballari, C. P., 1969. Agropiro criollo. Una buena gramínea perenne para integrar pasturas asociadas en la región semiárida pampeana. *Circ. Ext.* 27. INTA-EEA Anguil.

- Covas, G. 1963. Pasturas perennes artificiales para la región pampeana subhúmeda y semiárida. Boletín de divulgación técnica N°3. EEA Anguil INTA, La Pampa.
- Covas, G., 1959. Agropiro alargado: un buen pasto perenne para la región semiárida de la Argentina. INTA EEA Anguil, provincia de La Pampa. Circular de extensión N° 11. 2 pp.
- Cramer, G.R., 2003. Differential effects of salinity on leaf elongation kinetics of three grass species. *Plant and Soil*, 253: 233.
- Crisci, J. V., and Armengol, M. F. L., 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica (No. 57.06 CRI). Washington eD. CDC: OEA.
- Cuyeu, R., 2008. Aplicación de marcadores moleculares a estudios de variabilidad genética en poáceas forrajeras templadas. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Aplicadas, UNLu. 154 pág.
- Cuyeu, R., Rosso, B., Pagano, E., Soto, G., Fox, R., Ayub, N., 2013. Genetic diversity in a world germplasm collection of tall fescue. *Genetics and Molecular Biology*, 36, 2, 237-242
- Davies, W., 1960. *The Grass Crop*. Spon, London.
- de Araújo, SAM, Silveira, JAG., Almeida, TD., Rocha, IMA., Morais, DL., and Viégas, RA., 2006. Salinity tolerance of halophyte *Atriplex nummularia* L. grown under increasing NaCl levels. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.10, n.4, p.848-854, 2006
- de Luca M., García Seffino L., Grunberg K., Salgado M., Córdoba A., Luna C., Ortega L., Rodríguez A., Castagnaron A. and Taleisnik E., 2001. Physiological causes for decreased productivity under high salinity in Boma, a tetraploid *Chloris gayana* cultivar. *Australian Journal of Agricultural Research* 52:903-910.
- de Luca, M., 2008. Respuestas morfológicas al estrés salino de dos clones de *Chloris gayana* con tolerancia diferencial a este estrés. Tesis Magíster. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina, 115 pp.
- Defacio, R.A.; Paz, N.M.; Scropanich, F.M.; Bramardi, S.J.; Schlatter, A.R.; Ferrer, M.E., 2007. Análisis de 40 poblaciones locales de maíz (*Zea mays*) de la raza cristalino colorado en base a marcadores agro-morfológicos y moleculares. XXXVI Congreso Argentino de Genética. Pergamino, Argentina. 23 – 26 de septiembre de 2007.

- Demirevska, K., Zasheva, D., Dimitrov, R., Simova-Stoilova, L., Stamenova, M., and Feller, U., 2009. Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(6), 1129.
- Dewey, D. R., 1960. Salt Tolerance of Twenty-five Strains of *Agropyron* 1. *Agronomy Journal*, 52(11), 631-635.
- Dewey, D.R., 1984. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae. In *Gene manipulation in plant improvement*. Vol. 16. Edited by J.P. Gustafson. Plenum Press, New York. pp. 209–279.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, [URL<http://www.infostat.com.ar>].
- Díaz-Pérez, J.C., Shackel, K.A. and Sutter, E.G., 1995. Relative water content and water potential of tissue cultured apple shoots under water deficits. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 46, No. 282, pp. 111-118
- Dionisio-Sese M.L. and Tobita S., 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Sci.* 135: 1–9.
- Ducobsky, J., Galvez, A., Dvorack, J., 1994. Comparison of the genetic organization of the early stress-response gene system in salt tolerant *Lophopyrum elongatum* and salt sensitive wheat. *Theoretical and Applied Genetic* 87, 956-954.
- Dudley, J. and Moll, R., 1969. Interpretation and use of estimates of heretability and genetics variances to plant breeding. *Crop. Science*: 9(3) : 257 – 262.
- Dundas, I. S., and Shepherd, K. W., 1998. Shortening the *Agropyron* chromosome segment carrying gene Sr26 utilizing chromosome engineering and molecular markers. In “*Proceedings of the Ninth International Wheat Genetics Symposium*” (A. E. Slinkard, Ed.), Vol. 2, pp. 35–37. University Extension Press, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Duyvendak, R., and Luesink, B., 1979. Preservation of genetic resources in grasses. In *Proceedings of the Conference Broadening the Genetic Base of Crops*. Pudoc, Wageningen, the Netherlands (pp. 67-73).
- Dvorák, J., 1985. Transfer of salt tolerance from *Elytrigia pontica* (Podp.) Holub. to wheat by the addition of an incomplete *Elytrigia* genome. *Crop Sci.* 21: 306–309.



- Eagles, C., 1972. Competition for light and nutrients between natural populations of *Dactylis glomerata*. *Journal of Applied Ecology* 9: 141 – 151.
- Elgersma, A., Den Nijs, A., and Van Eeuwijk. E., 1989. Genetic variation for seed yield components of Westerwold ryegrass (*Lolium multiflorum* var *westerwoldicum*). *Netherlands Journal Agricultural Science* 37: 119-127.
- Epstein, E., 1977. Genetic potentials for solving problems of soil mineral stress: adaptation of crops to salinity. In Wrigth MJ, ed. *Plant adaptation to mineral stress in problem soils*. Ithaca, New York: Cornell University Agricultural Experiment Station, 73-123.
- Epstein, E., Norlyn, J. D., Rush, D. W., Kingsbury, R. W., Kelley, D. B., Cunningham, G. A., and Wrona, A. F., 1980. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science*, 210(4468), 399-404.
- Ernst, W.H.O., 1987. Population differentiation in grassland vegetation. En: J. Van Andel y col. (eds). *Disturbance in grasslands*. pp 214-228. Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht.
- Esau, K., 1987. Anatomía de las plantas con semilla. Ed. Hemisferio Sur, pp. 81 – 96
- Falasca, S., Miranda, C and Pitta Alvarez, S., 2017. Agro-Ecological Zoning for Tall Wheatgrass (*Thinopyrum Ponticum*) as a Potential Energy and Forage Crop in SaltAffected and Dry Lands of Argentina. *Scientific Pages Crop Science*, 1(1):10-19
- Falconer, D. S., 1989. *Introducción a la genética cuantitativa*. Compañía Editorial Continental.
- Falconer, D. S. y Mackay, T. F. C., 2001. *Introducción a la Genética Cuantitativa*. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España. pp.460.
- Falconer, D.S., 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*. 2nd Edition, Longman Group Ltd., London, 1-133.
- FAO, 2005. Global Network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. FAO Land and Plant Nutrition Management Services, Rome, Italy. <http://www.fao.org/aq/aql/aqll/spush>
- FAO, 2015. Status of the World's Soil Resources <http://www.fao.org/3/a-bc601e.pdf>  
Fecha de vista, 12/2018
- Fernández Grecco R C, Mazzanti A. Sciotti A., 1998. Fertilización nitrogenada y producción de forraje de una pastura de agropiro alargado. *Rev. Arg. Prod. Anim.*

Vol 18 supl.1, 22 Congreso Argentino de Producción Animal (Río Cuarto, Córdoba). Pp 119.

Fernández Grecco R C, Sciotti A, Mazzanti A., 1996. Fertilización nitrogenada sobre el crecimiento y la acumulación de forraje de *Thinopyrum ponticum*. Rev. Arg. Prod. Animal 16, Supl. 1:223-224.

Fernández Grecco, R y Agnusdei, M., 2001. Fertilización nitrogenada en pasturas de agropiro alargado: Efectos del fraccionamiento y la época y dosis de fertilización. Revista de Producción animal Vol. 21 Sup. 1. 24 ° Congreso de Prod. Animal. (Rafaela - Santa Fe). pp 152 - 153.

Fernández, G.C.J., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress, August 13-16, 1992, Shanhua, Taiwan, pp: 257-270.

Fernández, J. y Alonso, S., 2000. Evolución de la densidad de macollos en agropiro

Ferrari, L y Maddaloni J., 2001. Agropiro alargado. En: Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Universidad Nacional de Lomas de Zamora . Facultad de Ciencias Agrarias. Pp. 125 – 134.

Ferreira, M.E. y Grattapaglia, D., 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. EMBRAPA, 220pp

Fleury, D., Jefferies, S., Kuchel, H., and Langridge, P., 2010. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. Journal of experimental botany, 61(12), 3211-3222.

Flores, F., Moreno, M.T., Cubero, J.I., 1998. A comparison of univariate and multivariate methods to analyze GxE interaction. Field Crops Research 56 1998 271–286

Flowers T. J., 2004. Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany, 55 (396): 307-319.

Flowers T.J. and Yeo, A.R., 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? Aust. J. Plant Physiol. 22:875–884.

Flowers, T. J., and Colmer, T. D., 2008. Salinity tolerance in halophytes\*. New Phytologist, 179(4), 945–963

- Flowers, T. J., Hajibagheri, M. A., and Clipson, N. J. W., 1986. Halophytes. *The Quarterly Review of Biology*, 61(3), 313-337.
- Flowers, T., Koyama, M., Flowers, S., Sudhajar, C., Singh, K., Yeo, A., 2000. QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *Journal of Experimental Botany* 51:1-9.
- Forster, J. W., Jones, E. S., Kolliker, R., Drayton, M. C., Dumsday, J., Dupal, M. P., Guthridge, K. M., Mahoney, N. L., Van Zijll de Jong, E., and Smith K. F., 2001. Development and implementation of molecular markers for forage crop improvement. In *Molecular Breeding of Forage Crops*. Edited by G. Spangenberg. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. pp. 101–133.
- Fougere, F., Le Rudulier, D., and Streeeter, J. G., 1991. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*, 96(4), 1228-1236.
- Franco, J. A.; Esteban, C. y Rodríguez, C., 1993. Effects of salinity on various growth stages of muskmelon cv. Revigal. *Journal of Horticultural Science*, 68:6, 899-904
- Franco, M., 2011. Estudio de la variabilidad genética en familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* sometido a estrés salino. Tesis para optar al título de Magíster en genética vegetal-UNR. 140 pp.
- Friebe, B., Jiang, J., Knott, D. R., and Gill, B. S., 1994. Compensation indices of radiationinduced wheat *Agropyron elongatum* translocations conferring resistance to leaf rust and stem rust. *Crop Sci.* 34, 400–404.
- Friebe, B., Jiang, J.M., Raupp, W.J., McIntosh, R.A., and Gill, B.S., 1996. Characterization of wheat–alien translocations conferring resistance to disease and pests: current status. *Euphytica*, 91:59–87.
- Friguglietti, L., Varea, I., Ramírez, I., Acuña, M. L., Andrés, A., 2009. Efecto del estrés hídrico en familias de medios hermanos de agoproiro alargado. XXXVIII Congreso Argentino de Genética. San Miguel de Tucumán, 20 - 23 de Septiembre de 2009. Vol 45, pag 70.
- Gandara, F. R., y Gomez, P. O., 1987. El agoproiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. V. Valor alimenticio invernal de dos pasturas de agoproiro diferidas de otoño. *Revista Argentina de Producción Animal*, 7, 147-161.

- García, A., Rizzo, C. A., Ud-Din, J., Bartos, S. L., Senadhira, D., Flowers, T. J., and Yeo, A. R., 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium: potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant, Cell and Environment*, 20(9), 1167–1174.
- Garcia, M. G., Busso, C. A., Polci, P., Garcia Girou, N. L., and Echenique, V., 2002. Water relations and leaf growth rate of three Agropyron genotypes under water stress. *Biocell*. 26, 309–317.
- Gardner, C., 1963. Estimates of genetics parameters in cross fertilizing plants and their implications in plant breeding. In: W. Hanson and H. Robinson (eds.). "Statistical genetics and plant breeding". N. A. S., N. R. C. Publ. 982. Washington, D.C.
- Gastal, F., and Lemaire, G., 1988. Study of tall fescue sward grown under nitrogen deficiency conditions. In: General Meeting of the European Grassland Federation (12th., 1988, Dublin, Ireland). Proceedings. s.l., Wicklow. pp. 323-327.
- Gastal, F., Belanger, G., Lemaire, G., 1992. A Model of the leaf extension rate of tall fescue in response to nitrogen and temperature. *Annals of Botany*. 70: 437-442.
- Gauch Jr, H. G., 1988. Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics*, 705-715.
- Gauch, H. G., 2006. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE. *Crop Science*, 46(4), 1488-1500.
- Gauch, H., and Zobel, R. W. 1997. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Science*, 37(2), 311-326.
- Ghassemi, F., Jakeman, A.J., Nix, H.A., 1995. Salinisation of Land and Water Resources. Human Causes, Extent Management and Case Studies. University of New South Wales Press Ltd., Sydney, Australia.
- Gill, B.S., Friebe, B., Raupp, W.J., Wilson, D.L., Stan Cox, T., Sears, R., Brown-Guedira, G., and Fritz, A.K., 2006. Wheat genetics resource center: The first 25 years. *Advances in Agronomy*, Volume 89: 76-136.
- Gillet, M., 1984. Las gramíneas forrajeras. Ed. ACRIBIA Zaragoza. España. Pp 155 – 164.
- Gollob, H.F., 1968. A Statistical Model Which Combines Features of Factor Analytic and Analysis of Variance Techniques. *Psychometrika*, 33, 73-115.

- Gorgas, J y Bustos, M., 2008. Dinámica y evaluación de los suelos de Córdoba con problemas de drenaje, salinidad y alcalinidad sódica. En: La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria. 47-62 pp.
- Gorham, J., Papa, R and Aloy-Lleonart, M., 1994. Varietal differences in sodium uptake in barley cultivars exposed to soil salinity or salt spray J. Journal of Experimental Botany, Vol. 45, No. 276, pp. 895-9
- Gossett D.R., Millhollon E.P. and Lucas M.C., 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Science. 34: 706–714.
- Gower, J.C., 1966. Some distance properties of latent root and vector methods in multivariate analysis. Biometrika 53:315-328.
- Gower, J.C., 1975. Generalised Procrustes Analysis. Psychometrika 40:33-51.
- Grattan, S., Grieve, C.M., Poss, J.A., Robinson, P.H., Suarez, D. and Benes, S.E., 2004. Evaluation of salt-tolerant forages for sequential water reuse systemsIII. Potential implications for ruminant mineral nutrition. Agricultural Water Management - AGR WATER MANAGE. 70. 137-150.
- Greenway, H and Rogers, A., 1963. Growth and ion uptake of *Agropyron elongatum* as compared to a salt tolerant variety of *Hordeum vulgare*. Plant and Soil 18, 21-30
- Greenway, H., and Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology, 31(1), 149-190.
- Gregorious, H.R., 1974. Genetischer abstand zwischen populationen. 1. Zur konzeption der genestichen abstandsmessung. Silvae Genet. 23:22-27.
- Gregorious, H.R., 1984. A unique genetic distance. Biom. J. 26:13-18.
- Grieve, C. M., Francois, LE and Poss, JA., 2001. Effect of salt stress during early seedling growth on phenology and yield of spring wheat. Cereal Research Communications 29: 167–174.
- Griffa, S., Ribotta, A., López Colomba, E., Tommasino, E., Carloni, E., Luna, C., and Grunberg, K., 2010. Evaluation seedling biomass and its components as selection criteria for improving salt tolerance in *Buffel grass* genotypes. Grass and Forage Science, 65(3), 358-361.
- Guillén, R., 2002. Variabilidad genética en caracteres de interés agronómico en agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth et Dewey) cultivar “El Vizcachero INTA”. Tesis Maestría en Genética Vegetal. UNR-INTA. 179 pág.

- Gulick, P. and Dvorak, J., 1992. Coordinate gene responses to salt stress in *Lophopyrum elongatum*. *Plant Physiology* 100:1384-1388.
- Halliwell, B., 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chemistry and Physics of Lipids* 44: 327-340.
- Hamrick, J., 1979. Genetic variation and longevity. In: Solbrig, O., Jain, S, Jonson, G and Raven, P (Eds), *Topics in Plant Population Biology*. Columbia Univ. Press., New York, pp. 67-85.
- Hannon, N. J. and Bradshaw, A. D., 1968. Evolution of salt tolerance in two existing species of grass. *Nature* 220: 1342–1343.
- Harlan, J.R., 1983. The scope for collection and improvement of forage plant. In: McIvor, J.G. and Bray, R.A. (eds) *Genetic Resources of Forage Plants*. Melbourne CSIRO, Chapter 1: 3-14.
- Harrison, R.; Albarracin, R.; Rivoiro, R.; Cebaine, C.; Rojas, H.; Provitello, M., 2001. Forraje acumulado en otoño, invierno y primavera en una pastura de agropiro alargado sobre un suelo salino de la provincia de San Luis (Argentina). *Revista de Produccion animal* Vol. 21 Sup. 1. 24° Congreso de Prod. Animal. (Rafaela, Santa Fe) pp. 123-124.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K.,; Bohnert, H. J. , 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51(1), 463-499.
- Hayashi, H., Mustarrdy, A., Deshniun, P., Ida, M., Murata, N., 1997. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the *codA* gen for choline oxidasa, accumulation of glicine betaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. *Plant Journal* 12:133-142.
- Heath RL, Packer L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125: 180-198
- Hebblethwaite, P. and Ivins, I., 1978. Nitrogen studies in *Lolium perenne* grown for seed. II. Timing of nitrogen application. *J. Br. Grassl. Soc.* 33 : 159 – 166.
- Hester, M., Mendelsohn, I. and McKee, K., 2001. Species and population variation to salinity stress in *Panicum hemitomon*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: Morphological and physiological constraints. *Environmental and Experimental Botany*. 46. 277-297

- Hill, R.R., 1977. Quantitative genetics of forages: potentials and pitfalls. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy.
- Hiorth, G.E., 1985. Genética Cuantitativa. Volumen I. Fundamentos biológicos, Volumen II Selección, F.C.A., U.N.C.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The Water Culture Method for Growing Plants without Soil. University of California, Berkeley, p. 347, 1-32.
- Horst, G. L., and Dunning, N. B. 1989. Germination and seedling growth of perennial ryegrasses in soluble salts. Journal of the American Society for Horticultural Science (USA). 114, 338-342.
- Imam, A and Allard, R., 1965. Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I. The evidence and its theoretical analysis. Heredity 21 (3): 407 – 441.
- Imbellone, P.A., Gimenez, J.E., Panigatti, J.L., 2010. Capítulo 6. Procesos de sodificación y salinización. pag 261-288. En: Suelos de la región pampeana: procesos de formación. Ed. INTA Buenos Aires. 320pp.
- Innis, M.A. y Gelfand, D.H., 1990. Optimization of PCRs. pp. 3-12 in: PCR Protocols (Innis, Gelfand, Sninsky and White, eds.); Academic Press, New York. <http://www.mcb.uct.ac.za>
- Jacobsen, T and Adams, R., 1958. Salt and silt in ancient Mesopotamian agriculture. Science 128, 1251-1258.
- Jain, S., 1975. Population structure and the effects of breeding system. In: Frankel, O. and Hawkes, J. Crop genetic resources for today and tomorrow. London, pp. 15-36.
- Jauregui, C. G., Ruiz, M. D. L. Á., y Ernst, R. D., 2017. Tolerancia a la salinidad en plántulas de agropiro criollo (*Elymus scabrifolius*) y agropiro alargado (*Thinopyron ponticum*). Pastos y Forrajes, 40(1), 29-36.
- Jennings DH, 1976. Biological Reviews 51: 453–486
- Jewis, O., 1972. Tillering in grass: its significance and control. Journal Brit. Grassland.
- Jiang, J., and Gill, B. S., 1993. A 'zebra' chromosome arising from multiple translocations involving non homologous chromosomes. Chromosoma 102, 612–617.

- Jiang, J., and Gill, B. S., 1994. New 18S\_26S ribosomal RNA gene loci: Chromosomal landmarks for the evolution of polyploid wheats. *Chromosoma* 101, 179–185.
- Johnson, D. W., Smith, S. E., and Dobrenz. A. K., 1992. Selection for increased forage yield in alfalfa at different NaCl levels. *Euphytica* 60,27-35.
- Johnson, R. C., 1991. Salinity resistance, water relations, and salt content of crested and tall wheatgrass accessions. *Crop Science*, 31(3), 730-734.
- Jones, E.S., Dupal, M.P., Kölliker, R., Drayton, M.C., Forster, J.W., 2001. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers for perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Theor Appl Genet*, 102:405-415.
- Ketchum, R. E. B., Warren, R.C., Klima, L. J., López-Gutierrez, F. and Nabors, M.W.,1991. The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L. *J. Plant Physiology*. 137, 368-374.
- Khatun, S and Flowers, T., 1995. Effects of salinity on seed set in rice. *Plant, Cell and Environment* 18 (1) 61-67.
- Kim N-S, Armstrong K.C., Fedak G., Fominaya A. and Whelan E.W.P., 1993. Cytological and molecular characterization of a chromosome interchange and addition lines in Cadet involving chromosome 5B of wheat and 6Ag of *Lophopyrum ponticum*. *Theor Appl Genet* 86:827-832.
- Kleinhofs, A., Kilian, A., Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Hayes, P., Chen, F. Q., Lapitan, N., Fenwick, A., Blake, T. K., Kanazin, V., Ananiev, E., Dahleen, L., Kudrna, D., Bollinger, J., Knapp, S. J., Liu, B., Sorrells, M., Heun, M., Franckowiak, J. D., Hoffman, D., Skadsen, R. and Steffenson, B. J. (1993) A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theoretical Applied Genetics* 86, 705-712
- Knott, D. R., 1961. The inheritance of rust resistance. VI. The transfer of stem rust resistance from *Agropyron elongatum* to common wheat. *Can. J. Plant Sci.* 10, 109–123.
- Knott, D. R., 1968. Translocations involving Triticum chromosomes and *Agropyron* chromosomes carrying rust resistance. *Can. J. Genet. Cytol.* 10, 695–696.
- Konica Milota Sensing Ing., 2009.  
[https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos\\_y\\_documentos/452/SPAD-502Plus\\_ES.pdf](https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos_y_documentos/452/SPAD-502Plus_ES.pdf)



- Lanza Castelli S., Grunberg K., Muñoz N., Griffa s, López Colomba E., Ribotta A., Biderbost E., Celina Luna C. 2010. Oxidative damage and antioxidant defenses as potential indicators of salt-tolerant *Cenchrus ciliaris* L. Genotypes. *Flora* 205, 622–626
- Lanza Castelli, S., Griffa, S., Muñoz, N., Grunberg, K., Ribotta, A., López Colomba, E., Tommasino, E., Biderbost, E. and Luna, C. 2008. Expresión diferencial de ión superóxido en cultivares de *Cenchrus ciliaris* L. según su tolerancia al estrés salino. 1º Congreso de la Red Argentina de Salinidad, Córdoba, Argentina, pp. 67.
- Laplace, S., Brizuela, M., y Cid, M., 1994. Fenología y rendimiento de materia seca
- Läuchli, A. and Grattan, S. R. 2007. Plant growth and development under salinity stress. M.A. Jenks et al. (eds.), *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, 1–32.
- Lavado, R. S. y Taboada, M. A., 2009a. Los procesos de salinización globales y específicos de la pampa húmeda. Resúmenes Primer Congreso de la Red Argentina de Salinidad. pp 11.
- Lavado, R. S., and Taboada, M. A. 2009b. The Argentinean Pampas: A key region with a negative nutrient balance and soil degradation needs better nutrient management and conservation programs to sustain its future viability as a world agresource. *Journal of Soil and Water Conservation*, 64(5), 150A-153A.
- Lavado, R.S. y Taboada, M. A., 2017. Génesis y propiedades de los suelos halomórficos. En ambientes salinos y alcalinos de la Argentina. Recursos y aprovechamiento productivo. Editores: Taleisnik, E., y Lavado, R. S. Sección 2, pág: 9-27. ISBN 987-987-1922-23-9.
- Lavandera, J., 2014. Caracterización agronómica de poblaciones de agropiro alargado (*Thinopyron ponticum*) naturalizadas en la provincia de Buenos Aires. Tesis final de grado para optar al título de Ingeniero Agronomo, UNNOBA.49 pág.
- Leigh, R.A., Ahmad, N., and Wyn Jones, R.G., 1981. Assessment of glycine betaine and proline compartmentation by analysis isolated beet vacuoles. *Planta* 153, 34-41.
- Lemnatec, 2012. Plant Phenotyping <https://www.lemnatec.com/plant-phenotyping/>. Fecha vista 12/2018.
- Levins, R., 1968. *Evolution in changing environments*. Princeton University. Press, Princeton, USA

- Li, H., Chen, Q., Conner, R., Guo, B., Zhang, Y., Graf, R., Laroche, A., Jia, X., Liu, G., Chu, C., 2003. Molecular characterization of a wheat-*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid and its derivatives for resistance to leaf rust. *Genome* 46:906–913
- Li, H.J. and Wang, X.M., 2009. *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *J. Genet. Genomics* 36 557–565
- Li, Z., Li, B., and Tong, Y., 2008. The contribution of distant hybridization with decaploid *Agropyron elongatum* to wheat improvement in China. *Journal of Genetics and Genomics*, 35(8), 451–456.
- Liang, Y., Chen, Q Liu, Q, Zhang, W. and Ding, R., 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare L.*). *J. Plant Physiol.*, 160 (10): 1157-1164.
- Lindsay, M., Lagudah, E., Hare, R., Munns, R., 2004. A locus for sodium exclusion (Nax1), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. *Functional Plant Biology*, 31:1105-1114
- Loss, B.P., 1994 Morphological variation in Dutch perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*) populations, in relation to environmental factors. *Euphytica*. 74: 97-107.
- Loveless, M. y Hamrick, J., 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*. (15), pp. 65-95.
- Luna, C.M., De Luca, M., Taleisnik, E., 2002. Physiological causes for decreased productivity under high salinity in Boma, a tetraploid *Chloris gayana* cultivar. II. Oxidative stress. *Austr. J. Agricult. Res.* 53, 663–669.
- Luna, C.M., García Seffino, L., Arias, C., Taleisnik, E., 2000. Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance in *Chloris gayana*. *Plant Breeding* 119, 341–345.
- Lynch, M and Walsh, B., 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*,” Sinauer Associates, Sunderland, 1998, p. 980.
- Maas EV., 1986. Salt tolerance of plants. *Appied Agricultural Research*. 1:12–26
- Maas, E.V. and Hoffman, G.J., 1977. Crop Salt Tolerance-Current Assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division*, 103, 115-134.
- Maciel, M., Acuña, M., Decker, V., Andrés, A., y Pistorale, S. 2016. Caracterización molecular de agropiro alargado con diferente respuesta a la salinidad. XVI

Congreso Latinoamericano de Genética. ALAG. 9 al 12 de Octubre. Montevideo, Uruguay. ISSN: 1852-6233. Supl. Vol XXVII (1). Pp 282.

- Maciel, M., Tomassino, E., Pistorale, S., Andrés, A., y Grunberg, K. 2015. Salinity Effect on Oxidative Stress Parameters in Tall Wheatgrass Half-Sib Families. En actas del 5 th International Symposium of Forage Breeding. Buenos Aires Argentina. 19 al 21 de Octubre de 2015.
- Madan S., Nainawate H.S., Jain R.K., Cowdhury J.B., 1995. Proline and proline metabolising enzymes in in vitro selected NaCl-tolerant Brassica juncea L. under salt stress. Ann. Bot. 76 (1): 51-55.
- Maddaloni, J. Y Bertín O., 1990. Las gramíneas forrajeras utilizadas en las pasturas perennes del norte de la provincia de Buenos aires. Boletín de Divulgación Técnica N° 82. INTA Centro Regional Buenos Aires Norte. EEA Pergamino.
- Majerus, M., 1996. Plant Materials for Saline-Alkaline Soils. USDA Natural Resources Conservation Service, Bridger Plant Materials Center, Bridger, MT. <http://animalrangeextension.montana.edu/forage/documents/saline.pdf>
- Mansilla, M., Pistorale, S., Maciel, M., González, A., Apostol, N., 2011. Estudio de la plasticidad fenotípica en poblaciones de agropiro alargado en suelos salinos y alcalinos. En Actas CD: Segunda Reunión de la Red Argentina de Salinidad. RASTUC 2011. Sociedad Rural de Tucumán del 24 al 26 de Agosto de 2011. Pag 40
- Mansilla, M.C., 2012. Aspectos genético-ecológicos de *Thinopyrum ponticum* “agropiro alargado” (Poaceae): variabilidad genética y plasticidad fenotípica. Tesis de Grado para Licenciatura en Ciencias Biológicas UNLU, 110p
- Marino, M.; Cantarella, A., Agnusdei, M., y Echeverría, H., 2000. Crecimiento invierno - primaveral de agropiro y festuca. 2 . Dilución del fósforo en la biomasa aérea acumulada. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 20 Sup. 1. 23° Congreso Argentino de Producción Animal. Corrientes. Pp 157 – 158.
- Mariotti, J., 1986. Fundamentos de genética biométrica. Aplicaciones al mejoramiento genético vegetal. O.E.A. Serie Biológica. Monografía N° 32. 153 pp.
- Marshall, D. L., Levin, D. A. y Fowler, N. L. (1986). Plasticity of yield components in response to stress in *Sesbania macrocarpa* and *Sesbania vesicaria* (Leguminosae). American Naturalist 127, 508-521.
- Martin, T. J., Harvey, T. L., and Livers, R. W., 1976. Resistance to wheat streak mosaic virus and its vector, *Aceria tulipae*. Phytopathology 66, 346–349.

- Mazzanti, A. J., Castaño, G., Sevilla, G., y Orbea, J., 1992. Características agronómicas de especies cultivadas de gramíneas y leguminosas forrajes adaptadas al sudeste de la provincia de Buenos Aires. INTA. CERBAS. Manual de descripción. .73 pp.
- McGuire P.E. and Dvorák, J., 1981. High salt-tolerance potencial in wheatgrasses. *Crop Science* 21, 702-705.
- McIntosh, R.A., Hart, G.E., and Gale, M.D., 1993. Catalogue of gene symbols for wheat. Proceedings of the 8th International Wheat Genetics Symposium, held at Beijing, China, 20–25 July 1993. Edited by Z.S. Li and Z.Y. Xin. China Agricultural Sciencetech Press, Beijing. pp. 1333–1500.
- Meloni, D.A, M.A. Oliva, C.A. Martinez and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Env. Exp. Bot.*, 49 (1): 69-76.
- Menghini M., Andrioli R. y Ramos A., 2013. Confección de ensilajes de agropiro (*Thinopyrum ponticum*) según estado fenológico. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol. 33 suplemento 1. 36° Congreso Argentino de Producción Animal. Corrientes. Pp. 254.
- Miner, B. G., Sultan, S. E., Morgan, S. G., Padilla, D. K., and Relyea, R. A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(12), 685-692.
- Morgante, M. y Olivieri, M., 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant Journal*. 3: 175-182.
- Moxley, M.G., Berg, W.A., Barrau, E.M., 1978. Salt tolerance of five varieties of wheatgrass during seedling growth. *J. Range Manage.* 31, 54–55
- Mujeeb-Kazi, A., 1994. Use of annual and perennial Triticeae species for wheat improvement. In Proceedings of the 2nd International Triticeae Symposium, held in Logan, Utah, U.S.A., 20–24 June 1994. Edited by R.R.-C. Wang, K.B. Jensen, and C. Jaussi. Utah State University Publication Design and Production, Logan, Utah, U.S.A. pp. 86–89.
- Mullan DJ, Platteter A, Teakle NL., 2005. EST-derived SSR markers from defined regions of the wheat genome to identify *Lophopyrum elongatum* specific loci. *Genome* 48: 811–822.
- Munns R, Husain S, Rivelli AR, James R, Condon AG, Lindsay M, Lagudah ES, Schachtman DP, Hare RA., 2002. Avenues for increasing salt tolerance of

- crops, and the role of physiologically based selection traits. *Plant and Soil* 247, 93–105.
- Munns R. and Cramer G.R., 1996. Is coordination of leaf and root growth mediated by abscisic acid? (Opinion) *Plant and Soil* 185: 33–49.
- Munns R. and Tester M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Munns R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* 16: 15-24..
- Munns R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment.* 20: 239-250.
- Munns R., 2005b. Salinity stress and its impact. In: Blum A, ed. *Plant Stress*. <http://www.plantstressn.com/Articles/index.asp>
- Munns, R. 2005a. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R. and James, R.A., 2003. Screening methods for salt tolerance: A case study with tetraploid wheat. *Plant Soil*, 253: 239-250.
- Munns, R., 2004. The environmental and physiological nature of salinity. [www.plantstress.com/articles](http://www.plantstress.com/articles)
- Munns, R., and Termaat, A. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Functional Plant Biology*, 13(1), 143-160.
- Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R. A., Condon, A. T., Lindsay, M. P., and Hare, R. A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. In *Progress in Plant Nutrition: Plenary Lectures of the XIV International Plant Nutrition Colloquium* (pp. 93-105). Springer, Dordrecht.
- Muramatsu, M. 1990. Cytogenetics of decaploid *Agropyron elongatum* (*Elytrigia elongata*) ( $2n = 70$ ). I. Frequency of decavalent formation. *Genome*, 33: 811–817.
- Negrão, S., Schmöckel, S. M., and Tester, M. 2017. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119(1), 1-11.
- Neill, S. O., Gould, K. S., Kilmartin, P. A., Mitchell, K. A., and Markham, K. R. 2002a. Antioxidant capacities of green and cyanic leaves in the sun species, *Quintinia serrata*. *Functional Plant Biology*, 29(12), 1437-1443.

- Neill, S.J., R. Desikan, A. Clarke, R.D. Hurst and J.T. Hancock. 2002b. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J. Exp. Bot.*, 53: 1237-1247.
- Nguyen, H. T and Sleper, D. A. 1983. Theory and application of half-sibs matings in forage grass breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 64: 187-196.
- Nicora, E., 1978. Gramíneas. Parte III. En: Correa, M. N. *Flora Patagónica. Colección Científica del INTA*. Pp. 453 – 461.
- Noaman, M.M., Dvorak, J., Dong, J.M., 2002. Genes inducing salt tolerance in wheat, *Lophopyrum elongatum* and amphiploid and their responses to ABA under salt stress, in: Ahmad, R., Malik, K.A. (Eds.), *Prospects for Saline Agriculture (Series: Tasks for Vegetation Science)*. pp. 139–144.
- Noble, C. L. and Rogers, M. E., 1992. Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops. – *Plant Soil* 146: 99– 107.
- Noble, C.L., Halloran, G.M and West, D.W., 1984. Identification and selection for salt tolerance in lucerne (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal Agricultural Research*. 35: 239-252.
- Oliver, R., Xu, E., Stack, W., Friesen, T., Jin, E., Cai, X., 2006. Molecular cytogenetic characterization of four partial wheat-*Thinopyrum ponticum* amphiploids and their reactions to *Fusarium* head blight, tan spot, and *Stagonospora nodorum* blotch. *Theor Appl Genet* DOI 10.1007/s00122-006-0250-1
- Omielan, J. A., Epstein, E., and Dvořák, J. (1991). Salt tolerance and ionic relations of wheat as affected by individual chromosomes of salt-tolerant *Lophopyrum elongatum*. *Genome*, 34(6), 961–974.
- Palacios, N. S., Maciel, M. A., Andrés, A. N. y Pistorale S. M. 2015. Comportamiento de familias de agropiro alargado en un suelo sódico. XXXVII Congreso Argentino de Producción Animal. *Revista Argentina de Producción Animal*. Santa Rosa- La Pampa, 23 al 25 de Septiembre de 2015. ISSN: 0326-0550. Pp: 169
- Parida A.K. and Das A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60(3): 324-349.
- Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60, 324–349. doi:10.1016/j.ecoenv.2004.06.010
- Parodi, L., 1959. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Descripción de las plantas cultivadas*. Vol. 1. Ed. ACME S.A.C.I pp 117. 220.

- Pearson, C. e Ison, R., 1994. Agronomía de los sistemas pastoriles. Ed. Hemisferio Sur: 27-46.
- Perea, A.R.\* y Duhalde, J.M., 2015. Fertilización con fósforo y nitrógeno en pasturas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). Revista Argentina de Producción Animal Vol 35 Supl. 1: 139-257
- Pérez de la Torre M., Zirilli P, Rodríguez M y Escandón A. 2008. Análisis de la variabilidad genética utilizando marcadores moleculares en el género *Mecardonia*. 4º Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales; 10ª Jornadas Nacionales de Floricultura. pp 409 – 414.
- Pesqueira J. 2008. Cambios bioquímicos, morfológicos y ecofisiológicos en plantas del género *Lotus* bajo estrés salino. Tesis doctoral. Universidad Politécnica De Valencia.
- Petrusa, M.L. and Winicov, I., 1997. Proline status in salt tolerant and salt sensitive alfalfa cell lines and plants in response to NaCl, Plant Physiol. Biochemistry. 35 303–310.
- Pfannenstiel, M. A., and Niblett, C. L., 1978. The nature of the resistance of *Agrotricum* to wheat streak mosaic virus. Phytopathology 68, 1204–1209.
- Piaggio, A.; Marino, A., Lattanzi, F., Agnusdei, M., 1998. Efecto de la fertilización nitrogenada otoñal sobre el crecimiento primaveral de agropiro alargado. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18 supl.1, 22º Congreso Argentino de Producción Animal (Río Cuarto, Córdoba). Pp 117.
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N. y Carrera, A., (2004). IV. Marcadores Moleculares. En Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Argenbio-INTA. 61-68.
- Pistorale, S., Abbott, L., Andrés, A., 2008. Diversidad genética y heredabilidad en sentido amplio en agropiro alargado, *Thinopyrum ponticum*. Ciencia e Investigación Agraria 35(3):259-264.
- Pistorale, S., Bazzigalupi, O. y Andrés A., 2009. Germinación de agropiro alargado en condiciones de salinidad: estimación de parámetros genéticos. Actas 1º Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Córdoba 11 al 13 de marzo. UCC. P46
- Pistorale, S.M., Andrés, A.N. y Bazzigalupi, O., 2005. Characterisation of naturalised populations of *Thinopyrum ponticum* Podp. through indexes obtained under saline stress. p.268. In M.O. Humphreys (ed.).

- Plaza, J., Maciel, M.A., Andrés, A.N. y Pistorale, S.M., 2016. Caracterización agronómica de grupos familiares de agropiro alargado con diferente tolerancia a salinidad. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 36 Supl. 1:295-411 (2016)
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3), 225-238.
- Prevosti, A. (1974). La distancia genética entre poblaciones. *Miscellanea Alcobé*. Universidad de Barcelona. España.
- Priano, L. J. y Pilatti, M. A., 1989. Tolerancia a la salinidad de forrajeras cultivadas. *Ciencia del Suelo*. Vol. 7 N° 1-2.
- Primack, R. B., and Kang, H. 1989. Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20(1), 367-396.
- Puecher, D., Robredo, C., Ríos, R. y Rimieri, P., 2001. Genetic variability measures among *Bromus catharticus* Vahl. population and cultivars with RAPD and AFLP markers. *Euphytica* 121:229-236.
- Quiroga, M., Tommasino, E., Griffa, S., Ribotta, A., Colomba, E. L., Carloni, E., and Grunberg, K. 2016. Genotypic variation in response to salinity in a new sexual germplasm of *Cenchrus ciliaris* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 102, 53-61.
- Raja, H. y Bean, E.W. (1979). Seed development and seed shedding in North Italian ecotypes of *Lolium multiflorum*. *Grass and Forage Science*. 34: 221-227
- Ramakrishnan, A. P., Meyer, S. E., Waters, J., Stevens, M. R., Coleman, C. E., and Fairbanks, D. J., 2004. Correlation between molecular markers and adaptively significant genetic variation in *Bromus tectorum* (Poaceae), an inbreeding annual grass. *American Journal of Botany*, 91(6), 797–803.
- Ramirez, I., 2010. Estudio de la variabilidad genética en aspectos de interés agronómico en Familias de Medio-Hermanos de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (Podp) Barkwoth et Dewey). Tesis final de grado para optar al título de Licenciado en Genética, UNaM. 63 pág.
- Randazzo, P., 2015. Estudios genéticos en poblaciones de especies forrajeras adaptadas a Regiones Extra-pampeanas de la Argentina. Tesis para optar el título de “Doctor en Ciencias Aplicadas”. Universidad Nacional de Luján.



- Rashal, I. D., and Kholms, I. N. 1983. Variability and correlation of quantitative characters of Westerwolds ryegrass (*Lolium multiflorum* var. *westerwoldicum* Mans.) [Genotypes, phenotypes, heritability coefficients]. Soviet Genetics.
- Rausser, W. E., and W. L. Crowle. 1963. Salt tolerance of Russian wild ryegrass in relation to tall wheatgrass and slender wheatgrass. *Can. J. Plant Sci.* 43:397-407.
- Rawson, H. M., and Munns, R. 1984. Leaf expansion in sunflower as influenced by salinity and short-term changes in carbon fixation. *Plant, Cell and Environment*, 7(3), 207-213.
- Ray, I.M., and J.P. Harms. 1994. Heritabilities of morphological and agronomic traits in western wheatgrass. *Journal of Range Management.* 47:60-63.
- Rearte, D. 2007. Situación de la ganadería argentina en el contexto mundial (No. W:\Docum\_Elec\9. pdf). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires (Argentina). Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Buenos Aires (Argentina). Programa Nacional Carnes.
- Reed, D. (2005). Relationship between population size and fitness. *Conserv. Biol.* 19:563-568.
- Reif, J. C., Hamrit, S., Heckenberger, M., Schipprack, W., Maurer, H. P., Bohn, M., and Melchinger, A. E., 2005. Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(5), 838–845.
- Rhebergen, H., 1985. Microevolutionary processes in *Festuca rubra*. Thesis Vrije Universiteit Amsterdam.
- Rhodes, I and Stern, W., 1978. Competition for light. In: *Plant Relations in Pastures*, J. Wilson (ed.) CSIRO. Melbourne. pp 175 – 189.
- Rhodes, I., 1971. The relationships between productivity and some components of canopy structure in ryegrass (*Lolium* spp.): II. Yield, canopy structure and light interception. *Journal of Agricultural Science. (Cambridge)* 77: 283-292.
- Ribotta, A. 2011. Selección y caracterización de clones parentales diploides para la obtención de nuevo germoplasma con tolerancia incrementada a la salinidad en Grama rhodes (*Chloris gayana* K.). Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Ciencias Agropecuarias Mención: Producción Vegetal. 158 pp.

- Ricci, P., Romera, A., Burges, J.P., Fernandez, H., Cangiano, C.A., 2009. Case Study: Precision and Accuracy of Methodologies for Estimating In Vitro. *The Professional Animal Scientist*. 25. 625-632.
- Rice, S., 1983. Acclimation of fully-expanded leaves and changes in allocation patterns of an annual plant in response to changes in light and moisture conditions. *Bulletin of the Ecological Society of America*. 64, 58.
- Richards, L. A. (Ed.) 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. USDA Agriculture Handbook 60, Washington D. C.
- Röder, M., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M., Leroy, P., and Ganal, M., 1998. Microsatellite Map of Wheat Marion S. *Genetics Society of America* 149: 2007–2023.
- Rogers, M., Noble, C., Halloran G., Nicolas, M., 1997. Selecting for salt tolerance in white clover (*Trifolium repens*): chloride ion exclusion and its heritability. *New Phytologist*, 135, 645-654
- Rohlf, F.J., 2002. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.1. Exeter Publishing, Ltd. Setauket. NY.
- Rosielle, A. A., and Hamblin, J. 1981. Theoretical Aspects of Selection for Yield in Stress and Non-Stress Environment 1. *Crop Science*, 21(6), 943-946.
- Rosso B. y Andrés A., 2009. Caracterización preliminar de germoplasma de agropiro alargado para el mejoramiento genético. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol. 29 suplemento 1. 32º Congreso Argentino de Producción Animal. Mendoza. Pp. 468.
- Rosso, B., 2012. Estado de conservación y uso de los recursos genéticos de forrajeras en la red de germoplasma del INTA-Argentina. *Jornadas Latinoamericanas de Recursos Genéticos, Mejoramiento y Biotecnología de Especies*. Escuela de Ciencias Agrarias Naturales y Ambientales. UNNOBA.
- Rosso, B., Andrés, A. y Lavandera, J., 2008. Colecciones de germoplasma de dos especies forrajeras para suelos marginales. Comunicación. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 28 Supl. 1: 349-543 pag 441
- Roundy, B. A. 1987. Seedbed salinity and the establishment of range plants. In *Symposium on Seed and Seedbed Ecology of Rangeland Plants*, Tucson, Ariz.(USA), 21-23 Apr 1987. US Dept. of Agriculture.

- Rubinigg, J. Elzenga, T., and Stulen, I., 2002. Partitioning of N and C in *Festuca rubra* L. in. Relation to Growth Rate. *Phyton* (Horn, Austria) Vol. 42 Fasc. 2 251-267
- Ruíz Díaz, M. y Andrés, A., 1998. Variabilidad de caracteres relacionados a la producción de semilla de pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.). *Revista de Tecnología Agropecuaria.* 3(9), pp 25-29.
- Ruiz, J.M., B. Blasco, R.M. Rivero and L. Romero. 2005. Nicotine-free and salt-tolerant tobacco plants obtained by grafting to salinity-resistant rootstocks of tomato. *Physiol. Plant*, 124: 465- 475.
- Rybicki, E., 2005. PCR primer design and reaction optimization. *Molecular Biology Techniques Manual*. Third Edition. Edited by: Coyne, V., James, M., Reid, S., and Rybicki, E. <http://www.mcb.uct.ac.za>
- Saghai-Marroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:5466–5470
- Saha MC, Cooper JD, Mian MA, Chekhovskiy K y May GD. 2006. Tall fescue genomic SSR markers: development and transferability across multiple grass species. *Theor Applied Genetics*. 113(8):1449-58.
- Saha MC, Mian RMA, Eujay I, Zwonitzer JC, Wang L and May GD., 2004. Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species. *Theor Appl Genet* 101:783791
- Sairam, R.K., G.C. Srivastava, S. Agarwal and R.C. Meena. 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia. Plantarum.*,49: 85-91.
- Sakamoto, A., Alia, H., Murata, N., 1998. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycine betaine and tolerance to salt and cold. *Plant Molecular Biology*, 38:1011-1019.
- San Martino, L y Milicevic, C.M., 1995. Agropiro alargado: intensidad y frecuencia de corte en Santa Cruz. *Memorias XIV Reunión ALPA-19° Cong. AAPA: Rev. Arg. Prod. Anim. Vol.15 N° 1:374-378.*
- Sanan-Mishra, N., Pham, X., Sopory, S. and Tuteja, N., 2005. Pea DNA helicase 45 overexpression in tobacco confers high salinity tolerance without affecting yield. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, 102(2):509-514.

- Sargeant, M., Sale, P. and Tang, C., 2006. Salt priming improves establishment of *Distichlis spicata* under saline conditions. *Australian Journal of Agricultural Research* 57:1259-1265.
- Schaal, B. A., and Smith, W. G. 1980. The apportionment of genetic variation within and among populations of *Desmodium nudiflorum*. *Evolution*, 34(2), 214-221.
- Scheiner, S.M. and Goodnight C., 1984. The comparison of phenotypic plasticity and genetic variation in populations of the grass *Danthonia spicata*. *Evolution* 38. 845-855.
- Scheiner, S.M. and Lyman, R.F., 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. evol. Biol.* 2, 95-107.
- Schemeske, D., 1984. Population structure and local selection in *Impatiens pallida* (*Balsaminaceae*), a selging annual. *Evolution* 38 (4), pp. 817-832.
- Scheneiter, O., 2008. Pasturas en suelos ganaderos. En Jornada Forrajera: Oportunidades y desafíos en un escenario que cambia. X Reunión Anual sobre Forrajeras: "Oportunidades y desafíos en un escenario que cambia". UNNOBA, 21 de Noviembre de 2008
- Scheneiter, O., Barletta, P, Sellart, N., Codaro, A., 2011. Eficiencia de la fertilización nitrogenada en agropiro alargado en el norte de la Pcia. de Bs. As. pag 25-29. En: Fertilización en pasturas. Editores: D. Méndez y O. Scheneiter. Ediciones INTA
- Schlichting, C. D., 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 667-693.
- Schlichting, C. D. 2002. Phenotypic plasticity in plants. *Plant Species Biology*, 17(2-3), 85-88.
- Schmid, B., 1985. Clonal growth in grassland perennials. III. Genetic variation and plasticity between and within populations of *Bellis perennis* and *Prunus vulgaris*. *Journal Ecology* 73, 819-830.
- Schmidt, K. y Levin, D., 1985. The comparative demography of reciprocally sown populations of *Phlox drummondii* Hook. I. Survivorship, fecundities and finite rates of increase. *Evolution* 39, 396-404.
- Schultze-Kraft, R., 1990. Caracterización y evaluación preliminar de germoplasma de plantas forrajeras. Diálogo XVIII-Introducción, conservación y evaluación de

germoplasma forrajero en el Cono Sur. IICA-PROCISUR, Montevideo, Uruguay, Ed. J.P. Puignau. pp 319-326.

- Seaney, R., 1974. In Forages. "The Sciences of Grassland Agriculture" M.E. Heath, D.S. Metcalfe and R.F. Barnes, (Eds), Iowa State Univ. Press. Ames. pp 177-188.
- Sebesta, E. E., and Bellingham, R. C., 1963. Wheat viruses and their genetic control. In "Proceedings of the Second International Wheat Genetics Symposium" (J. MacKey, Ed.), Vol. 2, pp. 184–201. Hereditas Supp., Lund, Sweden.
- Sebesta, E. E., Young, H. C., and Wood, E. A., 1972. Wheat streak mosaic virus resistance. Ann. Wheat Newslet. 18, 136
- Sebesta, E., Smith, E., Young Jr., H., Porter, D. and Webster, J., 1995. Registration of Teewon wheat germplasm. Crop Science 35: 1, 294.
- Sevilla, G., Spada, M.C., Frigerio, K., Andrés, A., Becker, G., Blanco, E., Bolleta, A., Buono, G., Duhalde, J., Fontana, L., Gallego, J., García, J.M., Lavandera, J., Mattera, J., Romero, L., Romero, N., Utrilla, V., 2014. Producción de biomasa de cultivares de agropiro alargado en distintos sitios. Revista Argentina de Producción Animal Vol 34 Supl. 1: 97-211 (2014). Pag 169
- Shabala S and Cuin TA., 2008. Potassium transport and plant salt tolerance. Physiol. Plant. 133:651–69
- Shannon, M. C. 1978. Testing Salt Tolerance Variability among Tall Wheatgrass Lines 1. Agronomy Journal, 70(5), 719-722.
- Shannon, M. C. 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. Plant and Soil 89, 227-241.
- Shannon, M. C. 1997. Adaptation of plants to salinity. Advances in Agronomy, 60: 75-120.
- Shannon, M. C., 1998. Adaptation of plants to salinity. Adv. Agronomy. 60. 75– 119.
- Shannon, M. C., and Grieve, C. M., 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulturae, 78(1-4), 5–38.
- Shannon, M. C., and Noble, C. L. 1995. Variation in salt tolerance and ion accumulation among subterranean clover cultivars. Crop Science, 35(3), 798-804.
- Shannon, M.C. and Grieve, C.M., 1999. Tolerance of Vegetable Crops to Salinity. Scientia Horticulturae, 78, 5-38.

- Sharma, H., Ohm, H., Goulart, L., Lister, R., Appels, R., and Benlhabib, O., 1995. Introgression and characterization of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* into wheat. *Genome*, 38: 406–413.
- Shing, M., Ceccarelli, S., Hamblim, J., 1993. Estimation of heritability from varietal trials data. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 437-441.
- Singh R. K. and Chaudhary, B.D. 1979. Biometrical methods in quantitative genetic analysis. Kalyani publication, New Delhi, 120 p.
- Singh, R., 2006. Breeding for salt tolerance in rice. Plant Breeding, genetics and biotechnologies Division, International Rice Research Institute. [www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse](http://www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse)
- Smeatham, M., 1972. In “Pastures and Pastures Plants” R.H. Langer, (Ed.). Reed, Wellington, New Zeland. pp 179—228.
- Smith, K. and Sutherland G., 1996. Tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Z.W. Liu + R.R.C. Wang): a neglected resource in Australian pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 39: 4, 623-627.
- Smith, K., Lee, C., Borg, P. y Flinn, P., 1994. Yield, nutritive value, and phenotypic variability of tall wheatgrass grown in a nonsaline environment. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 34: 609-614.
- Snaydon, R. 1978. Genetic changes in pasture population. In: *Plant relations in Pasture*, Wilson, J. CSIRO. Melbourne, pp. 253-269.
- Snaydon, R. and DAVIES, M., 1972. Rapid population differentiation in a mosaic enviroment. II. Morphological variation in *Anthoxantum odoratum* . *Evolution* 26: 390–405.
- Snaydon, R., 1984. Intraspecific variation and its taxonomic implications. In: *Systematics Association Special Volume N° 25, “Current Concepts in Plant Taxonomy”*. V. Hey Wood and D. Moore (eds.) . Academic Press, London and Orlando, pp. 203 – 217.
- Snaydon, R., 1987. Population responses to enviromental disturbance. In: *Disturbance in grasslands. Causes, effects and processes*. J. Van andel, J. Bakker and R. Snaydon (eds.). Dordrecht, the Netherlands. W. Junk. Publishers. Pp. 15 – 31.
- Sneath, P.H.A. and Soakal. R. R., 1973. *Numerical Taxonomy*. WH Freeman and Co. San Francisco (USA).
- Sokal, R. y Rohlf, F., (1981). *Biometry*. WH Freeman and Company. 859 pp.

- soluciones salinas de poblaciones naturalizadas en agropiro alargado producidos en el
- Song QJ, Fickus EW, Cregan PB (2002) Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor Appl Genet* 104:286–293
- Soulé, M. (1973). The epistasis cycle: a theory of marginal populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* (4), pp. 165-187.
- Sreenivasulu, N., Sopory, S.K and Kavikishor, P.B., 2007. Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. *Gene* 388: 1-13.
- Stanfield, W. D., 1971. *Genética. Teoría y 400 problemas resueltos*. Serie Schaum, McGraw Hill, México. 405 pp.
- Studer, B., Widmer, F., Enkerli, J. y Kölliker, R., 2006. Development of novel microsatellite markers for the grassland species *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne* and *Festuca pratensis*. *Molecular Ecology Notes*. 2006 6, 1108-1110.
- Sudhakar C., Lakshmi A. and Giridarakumar S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*. 161: 613–619.
- Sugiyama, S., 1995 The relationship between growth and development of vegetative shoots in genotypes of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) *Annals of Botany* 76: 553-558.
- Sujatha K., Ansari, N.A. and Roat, N., 2002. Correlation and heritability studies of seedling characters in rice (*Oryza sativa* L) under salt (NaCl) stress. *Journal of Research ANGRAU* 30:130-132.
- Suyama, H., Benes, S.E., Robinson, P.H., Grattan, S.R., Grieve, C.M., Getachew, G., 2007a. Forage yield and quality under irrigation with saline-sodic drainage water: Greenhouse evaluation. *Agricultural Water Management* Volume 88, Issue 1-3, 16 March 2007, Pages 159-172
- Suyama, H., Benes, S.E., Robinson, P.H., Getachew, G., Grattan, S.R., Grieve, C.M., 2007b. Biomass yield and nutritional quality of forage species under long-term irrigation with saline-sodic drainage water: Field evaluation. *Animal Feed Science and Technology* Volume 135, Issue 3-4, 15 June 2007, Pages 329-345
- Szabolcs, I. 1994. Soils and salinisation. *Handbook of plant and crop stress*, 3-11.
- Taiz, L., Zeiger E., 1998. *Plant physiology*. 2 nd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts.

- Talesnik, E., Rodríguez, A.A., Bustos, D., Erdei, L., Ortega, L., Senn, M.E., 2009. Leaf expansion in grasses under salt stress. *Journal of plant physiology*, 166:1123-1140.
- Tallowin, J. R. B. 1981: An interpretation of tiller number changes under grazing. In: Wright, C. E. ed., *Plant physiology and herbage production. Occasional symposium of the British Grassland Society* 13 : 77 - 80.
- Tallowin, J.R.B.; Brookman, S.K.E. y Santos, G.L. 1995. Leaf growth and utilization in four grass species under steady state continuous grazing. *Journal of Agricultural Science* 124: 403-417.
- The, T. T., Gupta, R. B., Dyck, P. L., Appels, R., Hohmann, U., and McIntosh, R. A., 1992. Characterization of stem rust-resistant derivatives of wheat cultivar Amigo. *Euphytica* 58, 245–252.
- Tilman, D. and Downing, J., (1994). Biodiversity and stability in grasslands. *Nature* 367, 363-365.
- Twamley, B. E. 1967. Seed size and seedling vigor in birdsfoot trefoil. *Canadian Journal of Plant Science*, 47(5), 603-609.
- Twamley, B. E. 1974. Recurrent Selection for Seedling Vigor in Birdsfoot Trefoil 1. *Crop Science*, 14(1), 87-90.
- Tyler, B., Hayes, J. y Ellies Davies, W., 1985. Forage grass descriptors. CEC, IBPGR Rome. 30pp
- Tyler, B.F., Chorlton, K.H., Thomas, I.D., 1987. Chapter 1: Collection and field sampling techniques for forage. In *Collection, Characterization and Utilization of Genetic Resources of Temperate Forage Grass and Clover*. IBPGR, Roma. pp 3-10.
- United States Department of Agriculture (USDA)., 1975. Soil consergarion service (SCS). *Soil Taxonomy. A basis system of soil classification for making and interpreting soil surveys*. Handbook N° 436.
- Van Valen, L. (1965). Morphological variation and the width of the ecological niche. *Amer. Naturalist* 94, pp., 377-390.
- Vandewalle, M., 2007. DNA markers assisted selection for yield and quality traits in italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) Thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor (Phd) in Applied Biological Sciences.



- Vanebles, A.V. and Wilkins, D.A., 1978 Salt tolerance in pasture grasses. *New Phytologist*. 80: 613-622.
- Veliz, S.; Lavandera, J.; Fioravantti, N.; Acuña, M., 2018. Fenotipificación de agropiro alargado con comportamiento contrastante a condiciones halomórficas. CONGRESO MULTIDISCIPLINARIO DE LA UNNOBA: ciencia, innovación, y sociedad. 19 al 21 de abril de 2018, UNNOBA, Junín, Pcia. Buenos Aires, Argentina.
- Viglizzo EF, Carreño LV, Pereyra H, Ricard F, Clatt J, Pincén D., 2010. Dinámica de la frontera agropecuaria y cambio tecnológico. En: *Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental* Editores: Ernesto F. Viglizzo, Esteban Jobbágy Ediciones INTA. [http://catalog.ipbes.net/system/assessment/3/references/files/16/original/50.\\_Argentina\\_Expansi%C3%B3n\\_Frontera\\_Agropecuaria\\_2010.pdf?1346944833](http://catalog.ipbes.net/system/assessment/3/references/files/16/original/50._Argentina_Expansi%C3%B3n_Frontera_Agropecuaria_2010.pdf?1346944833)
- Vinh, N.T. and Paterson, A.H., 2005. Genome mapping and its implications for improving stress resistance in plants. In "Abiotic stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches". Eds Ashraf and Harris. Pp 109-124, Haworth Press, New York.
- Vogel, K. y Moore, K., 1998. Forage yield and quality of tall wheatgrass accessions in the USDA Germplasm Collection. *Crop. Sci.* 38: 509 – 512.
- Vogel, K.P., Arumuganathan K. y Jensen K.B., 1999. Nuclear DNA content of perennial grasses of the tribe Triticeae. *Crop Sci.* 39:661-667.
- Waddington, H., 1957. *The Strategy of the Genes; a Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology*. Allen and Unwin, London (1957)
- Wang et al, 2001 Wang, Z., Hopkins, A. y Mian, R., 2001. Forage and turf grass biotechnology. *Critical Reviews in Plant Science*, 20(6): 573-619.
- Wang Y. and Nil, N., 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J Hortic Sci. Biotechnol.* 75, 623–627. Xia FC, Jiang GQ, Lu JM
- Wang, L., Wang, X., and Huang, B. 1996. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from single cell suspension cultures of *Elymus giganteus* Vahl. *Plant Cell Rep.* 15:865–868.
- Wang, R.R.-C, Marburger, J.E., and Hu, C.J. 1991. Tissue-culture-facilitated production of aneuploid haploid *Thinopyrum ponticum* and amphiploid *Hordeum violaceum* ×

- H. bogdenii and their use in phylogenetic studies. *Theor. Appl. Genet.* 81: 151–156.
- Wang, R.R-C., and K.B. Jensen. 1994. Absence of the J genome in *Leymus* species (Poaceae: Triticeae): Evidence from DNA hybridization and meiotic pairing. *Genome* 37:231-235.
- [webiica.iica.ac.cr/bibliotecas/replica/B0515e/B0515e.pdf](http://webiica.iica.ac.cr/bibliotecas/replica/B0515e/B0515e.pdf)
- Weimberg, R., and Shannon, M. C. (1988). Vigor and salt tolerance in 3 lines of tall wheatgrass. *Physiol. Plant.* 73, 232-237.
- Weising, K., Beyermann, B., Ramser, J. y Kahl, C., 1991. Plant DNA-fingerprinting with radioactive and digoxigenated oligonucleotide probes complementary to simple repetitive DNA sequences. *Electrophoresis*, 12: 159-169.
- Whelan, E. D. P., Atkinson, T. G., and Larson, R. I., 1983. Registration of LRS-IF 193 wheat germplasm. *Crop Sci.* 23, 194.
- Whelan, E.D.P., and Hart, G.E. 1988. A spontaneous translocation that transfers wheat curl mite resistance from decaploid *Agropyron elongatum* to common wheat. *Genome*, 30: 289–292.
- Wilman, D., and Asiegbu, J. E. 1982. The effects of clover variety, cutting interval and nitrogen application on herbage yields, proportions and heights in perennial ryegrass-white clover swards. *Grass and Forage Science*, 37(1), 1-13.
- Witcombe, J. R., Hollington, P. A., Howarth, C. J., Reader, S., and Steele, K. A. 2008. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philos. Trans. Royal Society B: Biological Sciences.* 363, 703–716.
- Wong, S.H., Knight, J.A., Hopfer, S.M., Zaharia, O., Leach, Ch.N.Jr., Sunderman, W.Jr., 1987. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clinical Chemistry* 32(2): 214-220
- Wright, S., 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323 – 354.
- Xia Guangmin, Chen Suiyun, Quan Taiyong, Xiang Fengnin, Jin Yan, Chen Huimin, 2004. Introgression of salt-tolerance from somatic hybrids between common wheat and *Thinopyrum ponticum*. *Plant Science*, 164:773-779.
- Xin, Z.Y., Brettell, R.I.S., Cheng, E.M., Waterhouse, P.M., Appels, R., Banks, P.M., Zhou, G.H., Chen, X., and Larkin, P.J., 1988. Characterization of a potential source of barley yellow dwarf virus resistance for wheat. *Genome*, 30: 250–257.

- Yamaguchi, T and Blumwald, E. 2005. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends Plant Science*. 10, 616–620.
- Yancey, P., Clark, M.E., Had, S.C., Bowlus, R.D., Somero, G.N., 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte system. *Science* 217 (4566), 1214-1222.
- Yeo AR, Yeo ME, Flowers SA, Flowers TJ. 1990. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance. *Theoretical and Applied Genetics* 79, 377±384;
- Yeo, A. R., 1994. Physiological criteria in screening and breeding. In: Yeo, A. R. and Flowers, T. J. (eds.): *Soil mineral stresses. Approaches to crop improvement.* – Springer-Verlag, Berlin, 37– 60.
- Yokoi, S., Quintero, F., Cubero, B., Ruiz, M., Bressan, R., Hasegawa, P., Pardo, J., 2002. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in the salt stress response. *Plant J* 30(5):529–539
- Young, A., Boyle, T. y Brown, T., 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol Evol*. 11, 413-418.
- Zabala, J. M., Taleisnik, E., Giavedoni, J. A., Pensiero, J. F., and Schrauf, G. E. 2011. Variability in salt tolerance of native populations of *Elymus scabrifolius* (Döll) JH Hunz from Argentina. *Grass and Forage Science*, 66(1), 109-122.
- Zabala, J.M., 2011. Variabilidad de la respuesta al estrés salino en agropiro criollo (*Elymus scabrifolius* (Doll) H.Z.) en estado de plántula. Tesis Maestría en Genética Vegetal. UNR-INTA. 114 pág.
- Zarroug, K., 1983. Relationship between tillering and forage yield of tall fescue. I. Yield. *Crop Sci*. 23: 333 – 337.
- Zhang, H., Wang, X., You, M., and Liu, C. 1999. Water-yield relations and water-use efficiency of winter wheat in the North China Plain. *Irrigation Science*, 19(1), 37-45.
- Zhang, J., Klueva, N.Y., Wang, Z., Wu, R., Ho, T.H.D and Nguyen H.T., 2000. Genetic engineering for abiotic stress resistance in crop plants. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 36, 108-114.
- Zhang, X.Y., Dong, Y.S., and Wang, R.R.-C. 1996a. Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploids of the hybrids *Triticum aestivum* ×

*Thinopyrum ponticum* by in situ hybridization, isozyme analysis, and RAPD. *Genome*, 39: 1062–1071

Zhang, Y., Mian, M. A. R., and Bouton, J. H. 2006b. Recent molecular and genomic studies on stress tolerance of forage and turf grasses. *Crop Science*, 46(2), 497-511.

## ANEXO

**Tabla 3.I:** Medias aritméticas de los caracteres evaluados para cada tratamiento y comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ )

	Alt-1 (cm)	Alt-R1 (cm)	SPAD	Nmac1	Nmac2	PS1 (g)
<b>Control</b>	34,30±0,81	22,61±0,62	48,69±1,18	100,64±4,04	102,59±5,52	6,14±0,16
<b>Sódico</b>	26,60±0,81	14,10±0,62	49,49±1,18	82,75±4,05	77,09±5,53	3,81±0,16
<b>Salino</b>	23,83±0,81	12,32±0,62	50,73±1,18	81,46±4,04	79,43±5,52	2,70±0,16
<b>Salino-Sódico</b>	22,01±0,81	11,09±0,62	50,57±1,18	76,74±4,05	63,98±5,52	2,27±0,16
<b>Media</b>	26,69	15,03	49,87	85,40	74,06	3,73
<b>LSD</b>	2,77	2,06	8,53	14,00	8,53	0,56

**Tabla 3.II:** Medias aritméticas de los caracteres evaluados para cada genotipo y comparación de medias a través del test LSD de Fisher ( $\alpha=0,05$ ).

Genotipo	Alt-1 (cm)	Alt-R1 (cm)	SPAD	Nmac1	Nmac2	PS1 (g)
1	32,29 ± 1,23	16,85 ± 0,70	48,76 ± 1,20	86,2 ± 7,58	83,7 ± 7,69	4,79 ± 0,25
2	28,11 ± 1,23	15,82 ± 0,70	48,92 ± 1,20	58,2 ± 7,58	51,4 ± 7,69	3,12 ± 0,25
3	25,48 ± 1,23	14,4 ± 0,70	50,68 ± 1,20	113,2 ± 7,58	111,0 ± 7,69	4,64 ± 0,25
4	29,03 ± 1,23	15,87 ± 0,73	49,98 ± 1,20	100,7 ± 7,58	101,7 ± 7,69	4,9 ± 0,25
5	27,65 ± 1,23	15,58 ± 0,70	50,7 ± 1,20	102,7 ± 7,58	92,7 ± 7,69	4,59 ± 0,25
6	29,11 ± 1,23	14,33 ± 0,70	55,15 ± 1,20	92,0 ± 7,58	76,2 ± 7,69	4,47 ± 0,25
7	26,13 ± 1,23	13,76 ± 0,70	48,4 ± 1,20	85,7 ± 7,58	76,7 ± 7,69	4,04 ± 0,25
8	22,54 ± 1,23	14,1 ± 0,70	54,75 ± 1,20	79,3 ± 7,58	75,0 ± 7,69	2,84 ± 0,25
9	28,99 ± 1,23	17,44 ± 0,70	48,21 ± 1,20	119,7 ± 7,58	94,1 ± 7,69	5,15 ± 0,25
10	23,96 ± 1,23	14,53 ± 0,70	46,92 ± 1,20	73,3 ± 7,58	77,9 ± 7,69	3,38 ± 0,25
11	31,07 ± 1,23	16,47 ± 0,70	46,66 ± 1,20	71,8 ± 7,58	83,8 ± 7,69	3,16 ± 0,25
12	22,2 ± 1,3	14,33 ± 0,73	45,13 ± 1,23	27,5 ± 8,03	21,4 ± 8,02	0,98 ± 0,25
13	18,11 ± 1,23	11,56 ± 0,70	49,03 ± 1,20	33,6 ± 7,58	18,1 ± 7,69	0,87 ± 0,25
14	29,32 ± 1,23	13,93 ± 0,70	44,75 ± 1,20	95,0 ± 7,58	89,0 ± 7,69	4,49 ± 0,25
15	26,86 ± 1,23	16,63 ± 0,70	51,85 ± 1,20	101,5 ± 7,58	104,3 ± 7,69	4,27 ± 0,25
16	25,24 ± 1,23	14,43 ± 0,70	51,31 ± 1,20	68,1 ± 7,58	66,0 ± 7,69	2,36 ± 0,25
17	29,73 ± 1,23	15,99 ± 0,70	52,36 ± 1,20	89,3 ± 7,58	97,0 ± 7,69	4,88 ± 0,27
18	30,65 ± 1,23	16,69 ± 0,70	51,4 ± 1,20	79,5 ± 7,58	92,0 ± 7,69	4,71 ± 0,25
19	23,59 ± 1,23	14,21 ± 0,70	47,88 ± 1,20	59,9 ± 7,58	66,3 ± 7,69	2,23 ± 0,25

<b>20</b>	28,68 ± 1,23	14,58 ± 0,70	50,78 ± 1,20	92,0 ± 7,58	89,0 ± 7,69	4,45 ± 0,25
<b>21</b>	28,48 ± 1,23	16,67 ± 0,70	44,91 ± 1,20	68,5 ± 7,58	59,3 ± 7,69	3,69 ± 0,25
<b>22</b>	25,79 ± 1,23	13,92 ± 0,70	50,02 ± 1,20	122,7 ± 7,58	105,0 ± 7,69	4,68 ± 0,25
<b>23</b>	23,15 ± 1,23	14,98 ± 0,70	49,05 ± 1,20	93,7 ± 7,58	103,3 ± 7,69	4,18 ± 0,25
<b>24</b>	23,78 ± 1,23	15,13 ± 0,70	57,83 ± 1,20	81,7 ± 7,58	80,0 ± 7,69	3,15 ± 0,25
<b>25</b>	25,43 ± 1,23	15,42 ± 0,70	50,27 ± 1,20	79,7 ± 7,58	73,3 ± 7,69	3,78 ± 0,25
<b>26</b>	24,93 ± 1,23	14,26 ± 0,70	49,12 ± 1,20	115,0 ± 7,58	108,7 ± 7,69	4,4 ± 0,25
<b>27</b>	30,25 ± 1,23	15,38 ± 0,70	51,6 ± 1,20	74,5 ± 7,58	50,2 ± 7,69	3,33 ± 0,25
<b>28</b>	21,08 ± 1,23	14,42 ± 0,70	52,02 ± 1,20	95,4 ± 7,58	73,0 ± 7,69	2,63 ± 0,25
<b>29</b>	26,34 ± 1,23	14,13 ± 0,70	49,98 ± 1,20	96,3 ± 7,58	98,7 ± 7,69	3,71 ± 0,25
<b>30</b>	24,88 ± 1,23	13,53 ± 0,70	46,03 ± 1,20	117,3 ± 7,58	111,0 ± 7,69	4,38 ± 0,25
<b>31</b>	26,02 ± 1,23	15,04 ± 0,70	45,66 ± 1,20	104,3 ± 7,58	92,0 ± 7,69	3,59 ± 0,25
<b>32</b>	24,71 ± 1,23	13,17 ± 0,70	50,26 ± 1,20	102,3 ± 7,58	95,7 ± 7,69	3,92 ± 0,25
<b>33</b>	35,17 ± 1,23	16,44 ± 0,70	53,82 ± 1,20	56,5 ± 7,58	55,0 ± 7,69	3,00 ± 0,25
<b>34</b>	27,88 ± 1,23	16,33 ± 0,70	49,67 ± 1,20	67,3 ± 7,58	66,8 ± 7,69	2,53 ± 0,27
<b>35</b>	27,38 ± 1,23	15,68 ± 0,70	51,55 ± 1,20	84,7 ± 7,58	88,0 ± 7,69	3,34 ± 0,25
<b>Media</b>	<b>26,69</b>	<b>15,03</b>	<b>49,87</b>	<b>85,40</b>	<b>74,06</b>	<b>3,73</b>
<b>LSD</b>	3,26	1,71	2,05	20,67	16,03	1,1

**Tabla 3.III:** Comportamiento promedio por genotipo dentro de cada ambiente para las variables que evidenciaron interacción genotipo\*ambiente ( $p < 0,05$ ).

Genotipo	Alt-2 (cm)				Alt-R2 (cm)				Alt3 (cm)				Nmac3			
	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
1	38,33	29,40	25,43	21,57	12,33	7,43	8,23	6,43	28,33	12,73	21,07	10,73	77,33	36,67	56,67	28,67
2	46,87	28,90	26,83	20,80	12,73	8,90	9,80	7,27	32,23	12,37	23,47	11,02	50,67	12,33	27,67	16,14
3	29,67	26,90	19,70	17,40	11,03	7,87	7,27	6,63	21,73	8,97	14,50	9,07	116,00	48,33	69,33	28,33
4	34,63	28,03	24,60	19,47	9,10	8,30	8,50	7,37	21,43	13,83	16,77	10,83	92,00	44,67	79,33	69,33
5	42,10	24,03	21,30	19,13	12,73	7,77	9,00	6,37	30,43	13,23	18,60	10,20	105,33	26,00	88,00	35,33
6	40,23	28,73	23,77	23,37	11,37	9,77	7,07	7,60	25,30	13,17	16,13	11,73	64,00	34,67	62,00	44,33
7	39,40	28,67	21,67	18,90	12,20	8,70	8,33	7,33	25,17	11,20	16,67	10,03	78,67	31,67	66,67	49,00
8	39,03	19,73	19,63	15,33	12,00	7,43	8,27	7,07	30,83	10,00	17,60	10,83	82,67	43,61	64,00	31,67
9	40,07	30,30	25,30	21,77	12,17	10,27	12,50	8,03	29,67	15,57	17,83	10,53	121,33	56,33	46,67	54,77
10	37,07	21,70	22,03	18,00	11,17	7,27	8,83	6,23	28,07	10,80	17,13	9,03	70,67	16,33	42,00	25,00
11	48,57	25,27	30,60	22,60	11,93	8,63	9,93	6,77	28,03	15,27	26,63	12,13	82,67	51,00	51,33	42,77
12	43,67	20,17	21,37	10,43	10,70	11,70	8,90	7,80	34,20	14,50	18,30	2,85	54,67	6,56	16,33	0,00

<b>13</b>	39,93	10,00	16,43	10,07	12,47	12,25	7,73	9,70	33,27	9,70	18,93	7,55	25,67	14,79	22,33	0,72
<b>14</b>	41,70	27,23	20,27	18,63	13,07	7,13	7,67	6,00	28,33	10,30	16,30	9,30	110,67	57,00	65,33	11,00
<b>15</b>	39,03	25,60	22,63	20,90	14,73	8,33	9,50	7,67	30,23	10,27	17,83	13,27	124,00	48,33	92,00	54,67
<b>16</b>	32,63	24,67	20,17	15,43	12,13	7,13	8,47	5,90	25,40	11,43	17,17	8,95	84,00	39,33	47,00	19,00
<b>17</b>	42,60	35,27	18,90	16,87	13,50	8,33	7,03	5,73	34,60	16,20	15,07	10,55	104,00	20,56	92,00	74,59
<b>18</b>	40,23	28,27	26,43	19,60	14,33	8,27	10,00	7,47	30,93	12,73	21,33	12,33	85,33	39,67	81,33	48,67
<b>19</b>	39,27	21,70	20,17	15,13	10,93	8,10	8,07	6,23	27,30	12,13	17,10	9,17	70,00	36,00	46,67	20,67
<b>20</b>	43,83	28,47	23,13	19,17	10,60	8,53	8,33	7,60	22,93	13,65	19,63	18,33	77,33	43,11	88,00	38,00
<b>21</b>	37,73	26,00	23,70	20,47	12,13	10,87	8,83	7,33	26,43	15,93	17,33	11,50	70,00	18,67	55,67	17,33
<b>22</b>	28,73	21,87	20,93	20,43	8,53	5,33	7,63	7,57	15,77	6,80	14,23	11,47	120,00	43,56	70,00	33,00
<b>23</b>	30,13	23,07	20,23	18,53	13,00	6,63	7,27	6,93	16,93	10,10	19,77	9,47	136,00	68,33	112,00	57,33
<b>24</b>	38,07	24,17	22,40	15,70	10,53	7,10	7,83	6,00	22,57	9,89	19,17	10,47	76,00	31,84	64,67	43,67
<b>25</b>	41,20	24,62	23,87	20,90	10,73	7,23	10,20	7,20	27,97	11,50	19,07	12,13	53,33	17,61	51,33	31,67
<b>26</b>	33,00	22,20	20,37	18,70	9,73	7,57	6,87	6,70	19,93	12,35	16,80	10,55	78,67	34,61	100,00	47,33
<b>27</b>	38,60	29,10	21,03	24,30	12,60	8,20	7,77	7,53	28,70	14,27	18,70	13,17	65,67	17,67	46,00	22,00
<b>28</b>	26,67	18,47	15,07	13,63	9,67	6,87	8,07	5,83	14,23	8,63	8,90	7,77	81,33	34,33	60,00	33,77



<b>29</b>	37,40	22,60	22,73	18,60	8,67	7,63	8,07	7,00	21,57	11,55	15,90	13,22	76,67	19,56	88,00	36,64
<b>30</b>	34,63	22,90	21,63	15,53	10,30	7,00	6,53	5,07	19,77	10,20	15,17	8,27	116,00	86,00	80,00	51,33
<b>31</b>	43,33	29,33	25,97	20,00	10,83	6,88	7,93	6,53	27,90	9,73	19,47	9,33	81,33	34,00	58,67	39,00
<b>32</b>	37,43	24,87	21,47	17,87	8,67	7,17	7,17	6,07	22,27	9,83	16,13	8,70	113,33	49,67	82,67	49,33
<b>33</b>	55,90	33,50	28,60	26,43	12,53	9,10	8,27	9,97	32,47	9,45	21,70	17,10	43,00	8,61	28,00	16,67
<b>34</b>	41,27	24,83	22,17	16,47	13,73	7,73	8,83	6,23	31,20	10,23	20,87	10,97	68,00	42,33	41,67	29,00
<b>35</b>	40,87	27,47	25,43	17,50	11,33	7,97	8,73	6,07	26,27	11,03	20,47	10,00	81,33	30,67	64,00	31,67
<b>Media</b>	38,96	25,37	22,46	18,56	11,55	8,15	8,38	6,95	26,35	11,70	18,05	10,64	83,93	35,55	63,07	35,21
<b>LSD</b>	7,22				2,74				6,52				13,52			

**Tabla 3.III (continuación):** Comportamiento promedio por genotipo dentro de cada tratamiento para las variables que evidenciaron interacción genotipo\*ambiente ( $p < 0,05$ ).

Genotipo	TCD (mm/día)				AFE (cm <sup>2</sup> /gPF)				PS2 (g)				PS3 (g)			
	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
1	1,90	0,35	0,44	0,39	20,43	18,23	13,37	17,15	9,12	3,38	2,94	2,19	4,57	0,77	1,93	0,63
2	1,15	0,39	0,75	0,46	19,66	15,03	13,8	14,54	7,67	2,61	1,47	1,19	3,60	0,77	1,33	0,65
3	1,90	1,00	0,69	0,42	19,22	23,75	23,94	21,2	7,38	3,78	2,74	1,69	5,10	0,87	2,20	0,67
4	0,63	0,72	0,55	0,27	22,74	17,07	19,21	13,26	6,50	3,76	3,50	2,27	3,83	1,17	2,30	1,70
5	1,30	0,82	0,52	0,01	16,44	31,96	19,55	19,14	8,37	3,37	2,55	1,88	4,90	0,90	2,10	0,70
6	0,70	0,47	0,56	0,23	19,15	13,78	18,49	7,85	8,46	3,40	3,08	1,67	4,63	1,93	2,27	1,00
7	0,69	0,60	0,32	0,07	21,3	23,57	16,49	14,19	8,41	3,67	2,71	2,95	5,87	1,10	2,13	1,03
8	0,57	0,30	0,03	0,17	24,09	15,68	24,85	21,24	6,88	2,72	2,30	1,22	5,60	0,86	1,50	0,50
9	0,77	1,01	0,31	0,64	23,02	24,87	14,65	14,99	9,11	3,89	2,46	1,90	5,40	1,23	1,73	0,61
10	0,46	0,41	0,16	0,09	22,38	18,55	22,49	18,56	6,43	2,53	1,94	1,69	5,10	0,60	1,80	1,13
11	0,98	0,41	0,82	0,17	20,75	18,53	19,46	16,59	7,79	2,37	2,03	1,28	4,47	1,30	2,10	0,71
12	1,77	0,34	0,78	0,11	29,13	17,13	15,62	49,69	5,43	0,50	0,85	0,02	4,20	0,26	0,67	0,20
13	0,91	0,32	0,37	0,14	16,88	59,11	17,99	25,16	4,30	0,03	0,66	0,00	1,56	0,31	0,70	0,20
14	0,81	0,55	0,51	0,17	21,44	12,58	12,81	10,1	8,09	3,47	2,40	1,54	5,40	0,77	1,37	0,70
15	1,10	0,54	0,36	0,05	22,83	20,89	23,76	14,06	8,61	5,18	3,09	1,84	5,40	0,97	2,20	0,90

16	1,23	0,59	0,37	0,14	31,05	17,31	10,01	12,52	6,66	2,33	1,60	0,62	4,33	0,77	1,33	0,37
17	0,66	0,27	0,45	0,25	15,84	13,55	21,02	16,22	8,09	3,17	4,18	1,93	5,70	0,71	2,73	1,09
18	0,78	0,42	0,35	0,46	25,5	15,73	22,33	13,12	9,39	3,67	3,22	2,25	5,47	0,93	2,80	0,83
19	1,36	0,50	0,32	0,06	26,6	8,35	19,22	20,87	6,71	1,40	1,58	0,58	4,10	0,70	1,30	0,80
20	1,29	0,21	0,60	0,04	16,52	17,39	19,52	16,05	8,58	4,19	3,31	2,06	4,37	1,26	2,47	1,10
21	0,98	0,92	1,20	0,52	23,42	17,49	20,79	14,11	6,88	2,00	2,49	1,50	3,47	0,83	2,13	0,80
22	0,74	0,21	0,47	0,32	29,82	26,23	20,24	21,52	7,70	4,81	3,09	1,74	4,07	0,26	2,77	0,47
23	0,80	0,51	0,70	0,08	28,09	24,21	25,24	25,1	7,15	4,24	3,08	2,00	5,93	0,77	2,63	0,73
24	0,71	0,47	0,49	0,24	24,48	21,00	16,44	18,92	7,20	2,62	3,32	1,51	3,63	0,58	2,33	0,57
25	0,94	0,75	0,24	0,09	23,59	20,27	19,97	16,3	9,28	2,95	2,45	1,81	4,20	0,56	1,63	1,03
26	0,80	0,46	0,40	0,25	24,57	21,51	21,63	20,64	7,93	3,30	2,79	1,77	4,30	1,31	2,20	0,59
27	1,20	0,96	0,75	0,22	22,99	23,18	20,01	18,66	6,16	2,44	1,47	1,27	3,90	0,63	1,40	0,47
28	1,02	0,83	0,54	0,33	27,87	24,01	22,23	20,1	5,42	1,90	1,89	1,29	3,63	0,67	1,47	1,16
29	0,57	0,20	0,26	0,08	24,87	14,81	18,01	14,22	7,08	2,46	2,20	1,32	3,67	0,56	1,77	0,40
30	0,83	0,67	0,50	0,51	32,39	21,47	21,71	19,76	7,63	3,06	2,72	1,87	4,57	1,17	2,43	0,73
31	0,79	0,95	0,56	0,40	27,68	14,17	18,65	14,43	7,45	2,48	2,87	1,38	4,00	0,60	1,83	0,37
32	0,94	0,69	0,58	0,10	21,98	19,53	20,28	24,42	8,06	3,19	2,45	1,65	3,67	1,20	1,60	0,50
33	0,98	0,56	0,22	0,11	22,30	10,18	17,26	15,41	7,47	2,34	1,76	1,57	3,37	0,66	1,03	0,80
34	1,62	0,71	0,93	0,22	34,53	19,69	21,13	24,98	6,77	2,71	1,74	1,26	4,63	0,50	1,30	0,83
35	1,17	0,29	0,36	0,09	20,30	16,33	16,43	12,75	8,15	2,16	2,83	1,21	4,63	0,60	2,40	0,83

<b>Media</b>	1,00	0,55	0,50	0,23	23,54	19,92	19,10	18,22	7,49	2,92	2,45	1,54	4,44	0,83	1,88	0,74
<b>LSD</b>	0,54			12,26				1,15			1,43					

**Tabla IV:** Comportamiento promedio por genotipo para Ca<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> por genotipo dentro de cada tratamiento cuando hubo IGA significativo

Genotipo	Ca <sup>+</sup>	Mg <sup>+</sup>			
		Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
1	Ca+	7,73 ± 0,84	3,32 ± 0,84	3,41 ± 0,84	2,51 ± 0,84
2	1,63 ± 0,30	4,91 ± 0,84	3,28 ± 0,84	3,58 ± 0,84	3,03 ± 0,84
3	1,48 ± 0,30	4,94 ± 0,84	2,59 ± 0,84	2,72 ± 0,84	2,59 ± 0,84
4	1,41 ± 0,30	6,35 ± 0,84	4,85 ± 0,84	3,35 ± 0,84	3,22 ± 0,84
5	1,45 ± 0,30	6,62 ± 0,84	3,31 ± 0,84	3,02 ± 0,84	3,84 ± 0,84
6	1,45 ± 0,30	6,72 ± 0,84	3,65 ± 0,84	3,3 ± 0,84	2,79 ± 0,84
7	1,32 ± 0,30	6,89 ± 0,84	5,91 ± 0,84	3,56 ± 0,84	2,69 ± 0,84
8	1,27 ± 0,30	2,22 ± 0,84	3,05 ± 0,84	2,6 ± 0,84	2,32 ± 0,84
9	1,69 ± 0,30	4,1 ± 0,84	4,51 ± 0,84	3,57 ± 0,84	4,14 ± 0,84
10	1,75 ± 0,30	5,08 ± 0,84	2,77 ± 0,84	2,99 ± 0,84	2,46 ± 0,84
11	1,40 ± 0,30	6,8 ± 0,84	3,77 ± 0,84	2,82 ± 0,84	2,86 ± 0,84
12	2,05 ± 0,30	4,27 ± 0,84	3,59 ± 1,01	2,59 ± 0,84	2,6 ± 0,84
13	1,20 ± 0,31	4,58 ± 0,84	2,57 ± 0,84	2,79 ± 0,84	2,67 ± 0,84
14	1,49 ± 0,30	5,58 ± 0,84	3,31 ± 0,84	3,36 ± 0,84	2,08 ± 0,84
15	1,99 ± 0,30	7,13 ± 0,84	4,97 ± 0,84	3,04 ± 0,84	3,73 ± 0,84
16	1,91 ± 0,30	5,7 ± 0,84	4,65 ± 0,84	3,04 ± 0,84	2,96 ± 0,84
17	1,82 ± 0,30	7,48 ± 0,84	4,06 ± 0,84	3,53 ± 0,84	2,87 ± 0,84
18	1,31 ± 0,30	5,21 ± 0,84	5,65 ± 0,84	4,34 ± 0,84	3,47 ± 0,84
19	1,45 ± 0,30	4,53 ± 0,84	5,53 ± 0,84	3,58 ± 0,84	3,39 ± 0,84
20	1,35 ± 0,30	6,62 ± 0,84	3,64 ± 0,84	3,36 ± 0,84	2,8 ± 0,84
21	1,24 ± 0,30	13,43 ± 0,84	3,52 ± 0,84	3,35 ± 0,84	2,57 ± 0,84
22	2,17 ± 0,30	5,55 ± 0,84	3,8 ± 0,84	3,22 ± 0,84	3,19 ± 0,84

<b>23</b>	1,59 ± 0,30	4,18 ± 0,84	3,46 ± 1,01	2,98 ± 0,84	2,55 ± 0,84
<b>24</b>	1,26 ± 0,31	5,48 ± 0,84	3,21 ± 1,01	2,7 ± 0,84	2,3 ± 0,84
<b>25</b>	1,81 ± 0,31	5,51 ± 0,84	2,83 ± 0,84	3,91 ± 0,84	3,09 ± 0,84
<b>26</b>	1,26 ± 0,30	4,84 ± 0,84	3,68 ± 0,84	3,15 ± 0,84	2,89 ± 0,84
<b>27</b>	1,35 ± 0,30	7,72 ± 0,84	4,37 ± 0,84	3,75 ± 0,84	3,41 ± 0,84
<b>28</b>	1,38 ± 0,30	6,05 ± 0,84	5,41 ± 0,84	3,53 ± 1,01	2,2 ± 0,84
<b>29</b>	1,62 ± 0,31	5,73 ± 0,84	3,28 ± 0,84	2,75 ± 0,84	2,73 ± 0,84
<b>30</b>	1,43 ± 0,30	5,83 ± 0,84	4,41 ± 0,84	4,53 ± 0,84	3,81 ± 0,84
<b>31</b>	2,13 ± 0,30	4,18 ± 0,84	3,11 ± 0,84	3,72 ± 0,84	2,87 ± 0,84
<b>32</b>	1,43 ± 0,30	5,87 ± 0,84	5,3 ± 0,84	3,42 ± 0,84	2,85 ± 0,84
<b>33</b>	1,74 ± 0,30	4,77 ± 0,84	4,24 ± 0,74	3,25 ± 0,84	3,37 ± 0,84
<b>34</b>	1,41 ± 0,29	4,8 ± 1,01	3,9 ± 0,84	3,06 ± 0,84	4,23 ± 0,84
<b>35</b>	1,60 ± 0,31	4,55 ± 0,84	2,97 ± 0,84	2,55 ± 0,84	1,92 ± 1,01
<b>Media</b>	1,55	5,77	3,9	3,27	2,94
<b>LSD</b>	NC	2,28			

**Tabla 3.IV continuación:** Comportamiento promedio por genotipo para Ca<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> por genotipo dentro de cada tratamiento cuando hubo IGA significativo

Genotipo	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>				K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>			
		Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico	Control	Sódico	Salino	Salino-Sódico
1	16,16 ± 1,57	17,11 ± 5,36	22,30 ± 5,36	40,35 ± 5,36	48,07 ± 5,36	1,32 ± 0,38	0,76 ± 0,21	0,33 ± 0,10	0,30 ± 0,08
2	13,53 ± 1,57	9,94 ± 5,36	18,10 ± 5,36	34,04 ± 5,36	33,56 ± 5,36	2,36 ± 0,73	0,68 ± 0,19	0,35 ± 0,11	0,37 ± 0,10
3	15,58 ± 1,57	14,64 ± 5,36	24,46 ± 5,36	28,96 ± 5,36	35,98 ± 5,36	1,67 ± 0,50	0,64 ± 0,18	0,48 ± 0,14	0,36 ± 0,09
4	18,87 ± 1,57	16,03 ± 5,36	24,41 ± 5,36	20,74 ± 5,36	26,34 ± 5,36	1,69 ± 0,50	0,64 ± 0,18	0,77 ± 0,22	0,67 ± 0,18
5	15,91 ± 1,57	11,18 ± 5,36	23,58 ± 5,36	13,93 ± 5,36	28,87 ± 5,36	1,94 ± 0,59	0,95 ± 0,27	1,26 ± 0,35	0,35 ± 0,09
6	12,25 ± 1,57	16,68 ± 5,36	20,02 ± 5,36	22,16 ± 5,36	26,98 ± 5,36	1,16 ± 0,33	0,65 ± 0,18	0,47 ± 0,14	0,27 ± 0,07
7	12,12 ± 1,57	18,22 ± 5,36	27,49 ± 5,36	21,64 ± 5,36	30,80 ± 5,36	0,83 ± 0,23	0,39 ± 0,11	0,82 ± 0,23	0,25 ± 0,07
8	13,76 ± 1,57	10,55 ± 5,36	24,82 ± 5,36	19,43 ± 5,36	34,22 ± 5,36	2,38 ± 0,73	0,54 ± 0,15	0,65 ± 0,19	0,27 ± 0,07
9	12,13 ± 1,57	9,00 ± 5,36	30,35 ± 5,36	35,57 ± 5,36	51,29 ± 5,36	2,67 ± 0,83	0,34 ± 0,10	0,32 ± 0,10	0,24 ± 0,06
10	14,03 ± 1,57	16,54 ± 5,36	31,13 ± 5,36	34,98 ± 5,36	40,17 ± 5,36	1,85 ± 0,55	0,32 ± 0,09	0,40 ± 0,12	0,19 ± 0,05
11	11,79 ± 1,57	15,71 ± 5,36	29,13 ± 5,36	28,55 ± 5,36	62,39 ± 5,36	1,28 ± 0,37	0,39 ± 0,11	0,48 ± 0,14	0,15 ± 0,05
12	9,47 ± 1,64	10,24 ± 5,36	27,32 ± 6,46	31,02 ± 5,36	37,80 ± 5,36	1,93 ± 0,58	0,29 ± 0,10	0,35 ± 0,11	0,23 ± 0,06
13	13,75 ± 1,57	15,36 ± 5,36	40,60 ± 5,36	12,19 ± 5,36	37,98 ± 5,36	1,45 ± 0,42	0,14 ± 0,05	1,23 ± 0,34	0,25 ± 0,07
14	10,95 ± 1,57	17,42 ± 5,36	25,03 ± 5,36	42,42 ± 5,36	41,57 ± 5,36	1,98 ± 0,60	0,31 ± 0,09	0,19 ± 0,06	0,13 ± 0,04
15	13,45 ± 1,57	12,34 ± 5,36	35,03 ± 5,36	19,30 ± 5,36	32,85 ± 5,36	1,93 ± 0,58	0,27 ± 0,08	0,61 ± 0,18	0,29 ± 0,07
16	14,02 ± 1,57	8,43 ± 5,36	14,68 ± 5,36	17,45 ± 5,36	33,99 ± 5,36	2,34 ± 0,72	1,19 ± 0,33	0,97 ± 0,27	0,20 ± 0,05
17	17,19 ± 1,57	13,45 ± 5,36	32,72 ± 5,36	24,23 ± 5,36	36,31 ± 5,36	1,83 ± 0,55	0,41 ± 0,12	0,81 ± 0,23	0,41 ± 0,10
18	15,28 ± 1,57	7,65 ± 5,36	29,49 ± 5,36	23,03 ± 5,36	27,16 ± 5,36	2,98 ± 0,94	0,46 ± 0,13	0,67 ± 0,19	0,67 ± 0,18
19	15,40 ± 1,57	7,33 ± 5,36	24,07 ± 5,36	15,26 ± 5,36	34,87 ± 5,36	3,17 ± 1,01	0,46 ± 0,13	1,05 ± 0,29	0,36 ± 0,09
20	14,64 ± 1,57	21,37 ± 5,36	23,03 ± 5,36	32,06 ± 5,36	30,12 ± 5,36	1,52 ± 0,44	0,53 ± 0,15	0,66 ± 0,19	0,30 ± 0,08
21	11,79 ± 1,57	25,00 ± 5,36	37,80 ± 5,36	27,06 ± 5,36	37,87 ± 5,36	0,77 ± 0,21	0,20 ± 0,06	0,38 ± 0,11	0,27 ± 0,07
22	18,79 ± 1,57	16,44 ± 5,36	36,30 ± 5,36	31,34 ± 5,36	24,10 ± 5,36	2,27 ± 0,70	0,43 ± 0,12	0,53 ± 0,15	0,55 ± 0,15
23	19,19 ± 1,64	11,92 ± 5,36	27,71 ± 6,46	25,20 ± 5,36	33,49 ± 5,36	2,20 ± 0,67	0,64 ± 0,22	0,74 ± 0,21	0,44 ± 0,11

<b>24</b>	16,58 ± 1,64	9,30 ± 5,36	33,21 ± 6,46	22,60 ± 5,36	25,08 ± 5,36	3,09 ± 0,98	0,51 ± 0,18	0,74 ± 0,21	0,52 ± 0,14	
<b>25</b>	12,78 ± 1,57	19,88 ± 5,36	20,66 ± 5,36	25,34 ± 5,36	36,03 ± 5,36	0,87 ± 0,24	1,16 ± 0,32	0,63 ± 0,18	0,20 ± 0,06	
<b>26</b>	18,86 ± 1,57	11,33 ± 5,36	23,17 ± 5,36	20,64 ± 5,36	31,46 ± 5,36	3,08 ± 0,98	0,86 ± 0,24	1,21 ± 0,34	0,36 ± 0,09	
<b>27</b>	12,90 ± 1,57	19,21 ± 5,36	29,01 ± 5,36	33,26 ± 5,36	33,24 ± 5,36	1,15 ± 0,33	0,40 ± 0,12	0,33 ± 0,10	0,29 ± 0,08	
<b>28</b>	22,07 ± 1,64	14,18 ± 5,36	39,36 ± 5,36	25,03 ± 6,46	24,37 ± 5,36	2,13 ± 0,65	0,70 ± 0,20	0,83 ± 0,29	0,56 ± 0,15	
<b>29</b>	16,54 ± 1,57	14,92 ± 5,36	28,59 ± 5,36	30,74 ± 5,36	37,16 ± 5,36	2,39 ± 0,74	0,33 ± 0,10	0,44 ± 0,13	0,48 ± 0,12	
<b>30</b>	19,19 ± 1,57	12,92 ± 5,36	26,51 ± 5,36	34,94 ± 5,36	41,74 ± 5,36	2,54 ± 0,79	0,64 ± 0,18	0,46 ± 0,14	0,41 ± 0,11	
<b>31</b>	14,00 ± 1,57	8,20 ± 5,36	26,03 ± 5,36	22,57 ± 5,36	28,19 ± 5,36	2,78 ± 0,87	0,46 ± 0,13	0,71 ± 0,20	0,33 ± 0,09	
<b>32</b>	13,40 ± 1,57	13,77 ± 5,36	33,97 ± 5,36	26,77 ± 5,36	28,67 ± 5,36	1,65 ± 0,49	0,43 ± 0,12	0,33 ± 0,10	0,27 ± 0,07	
<b>33</b>	11,16 ± 1,57	10,22 ± 5,36	28,10 ± 5,36	27,28 ± 5,36	47,67 ± 5,36	2,33 ± 0,72	0,32 ± 0,09	0,53 ± 0,15	0,12 ± 0,04	
<b>34</b>	19,20 ± 1,64	10,99 ± 6,46	23,40 ± 5,36	14,37 ± 5,36	38,71 ± 5,36	2,90 ± 1,12	0,81 ± 0,23	1,62 ± 0,44	0,46 ± 0,12	
<b>35</b>	15,20 ± 1,64	13,30 ± 5,36	32,60 ± 5,36	27,06 ± 5,36	28,10 ± 6,46	1,84 ± 0,55	0,52 ± 0,15	0,56 ± 0,16	0,34 ± 0,11	
<b>Media</b>	14,91	13,74	27,83	26,04	35,06	2,01	0,54	0,65	0,34	
<b>LSD</b>	3,64	14,78				1,00				



**Tabla 3.V:** Análisis de la varianza para (i) relación K/Na y (ii) la producción de materia seca acumulada (PMSA)

**(i) K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>**

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	199	170,13	<0,0001
TRATAMIENTO	2	4	5,87	0,0646
GENOTIPO	34	199	5,81	<0,0001
<b>TRATAMIENTO : GENOTIPO</b>	<b>68</b>	<b>199</b>	<b>1,59</b>	<b>0,0071</b>

**(ii) PMSA (g)**

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	4399,65	<0,0001
TRATAMIENTO	2	317,89	<0,0001
GENOTIPO	34	45,42	<0,0001
<b>TRATAMIENTO : GENOTIPO</b>	<b>68</b>	<b>1,89</b>	<b>0,0003</b>

**Tabla 3.VI** Autovalores de la matriz de correlación

Variables	e1	e2
Ca <sup>+</sup>	0,14	0,86
Mg <sup>+</sup>	0,39	0,34
K <sup>+</sup>	0,46	-0,04
Na <sup>+</sup>	-0,42	0,26
K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>	0,46	-0,28
PMSA	0,47	9,40E-04

**Tabla 3.VII:** Correlación de Pearson para las variables en estudio, obtenidas para cada tratamiento.

Control	Alt-1	Alt-R1	Alt-2	Alt-R2	Alt-3	SPAD	Nmac1	Nmac2	Nmac3	PS1	PS2	PS3	PMSA	K/Na	TCD	AFE
Alt-1	1	***	***	***	***	NS	***	**	**	NS	***	*	**	NS	*	NS
Alt-R1	0,49	1	***	***	***	***	*	NS	NS	*	NS	*	NS	NS	***	NS
Alt-2	0	0,47	1	***	***	NS	***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	***	**
Alt-R2	0,4	0,34	0,43	1	***	NS	**	***	***	***	NS	***	***	*	**	NS
Alt-3	0,48	0,4	0,68	0	1	NS	***	***	***	***	***	***	***	***	***	NS
SPAD	-0,12	-0,31	-0,07	-0,01	-0,02	1	NS	NS	NS	***	***	***	***	***	***	NS
Nmac1	-0,28	-0,23	-0,46	-0,25	-0,32	-0,04	1	***	***	***	NS	0,65	***	NS	NS	NS
Nmac2	-0,24	-0,17	-0,45	-0,27	-0,44	0,05	0,42	1	0	***	***	***	***	NS	***	NS
Nmac3	-0,24	-0,17	-0,48	-0,07	-0,34	-0,04	0,42	0,65	1	***	**	***	***	NS	NS	NS
PS1	0,11	-0,21	-0,17	-0,09	-0,28	-0,03	0,47	0,57	0,5	1	***	0,11	***	NS	NS	**
PS2	0,3	0,09	0,21	0,08	-0,07	-0,03	0,18	0,37	0,27	0,65	1	**	***	NS	NS	NS
PS3	0,22	0,23	0,14	0	0,37	-0,33	0,05	0,1	0,3	0,16	0,25	1	***	***	NS	NS
PMSA	0,27	0,02	0,06	0,15	-0,02	-0,17	0,33	0,47	0,48	0,83	0,83	0,59	1	NS	NS	*
K/Na	0,03	0,17	-0,02	0,19	0,15	-0,08	0,04	0,07	0,17	-0,05	0,09	0,3	0,13	1	NS	NS
TCD	0,23	0,34	0,28	0,25	0,35	-0,01	0,02	-0,29	-0,16	-0,17	-0,01	0,05	-0,07	0,01	1	*
AFE	-0,15	0,14	-0,24	-0,1	-0,12	-0,15	-0,07	0,01	0,11	-0,27	-0,15	0	-0,2	0,12	-0,19	1

\*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; NS: no significativa

Sódico	Alt-1	Alt-R1	Alt-2	Alt-R2	Alt-3	SPAD	Nmac1	Nmac2	Nmac3	PS1	PS2	PS3	PMSA	K/Na	TCD	AFE
Alt-1	1	***	***	*	***	NS	NS	NS	NS	***	NS	*	***	NS	NS	NS
Alt-R1	0,33	1	***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS	*	NS	NS	NS
Alt-2	0,56	0,62	1	***	***	NS	NS	NS	NS	**	***	NS	***	NS	NS	NS
Alt-R2	0,25	0,43	0,38	1	***	NS	*	***	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS
Alt-3	0,37	0,32	0,4	0,69	1	**	*	***	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS
SPAD	-0,07	-0,02	-0,09	-0,06	-0,3	1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Nmac1	0,1	-0,06	0,04	-0,23	-0,23	0,05	1	***	**	***	***	NS	***	NS	NS	NS
Nmac2	-0,09	-0,12	-0,16	-0,33	-0,35	0,17	0,64	1	***	***	***	NS	***	NS	NS	NS
Nmac3	0,07	-0,08	-0,03	-0,02	0,2	-0,2	0,29	0,31	1	***	*	***	***	NS	NS	NS
PS1	0,43	0,12	0,28	-0,03	0,05	-0,08	0,76	0,52	0,34	1	***	*	***	NS	NS	NS
PS2	0,2	0,39	0,36	-0,02	-0,09	0,19	0,54	0,53	0,25	0,64	1	*	***	NS	NS	NS
PS3	0,21	0,07	0,24	0,47	0,49	0,05	0,11	0,03	0,37	0,22	0,23	1	***	*	NS	NS
PMSA	0,38	0,26	0,38	0,08	0,1	0,06	0,69	0,54	0,39	0,89	0,87	0,46	1	NS	NS	NS
K/Na	0,04	-0,13	-0,13	-0,04	0,08	0,13	0,01	-0,02	0,13	0,01	-0,05	0,25	0,04	1	NS	**
TCD	-0,04	0,08	0,07	0,14	0,12	0,02	0,07	-0,1	-0,02	-0,05	0,02	0,11	0,01	0,07	1	NS
AFE	0,11	0,16	0	0,02	0,13	-0,13	0,13	0,1	0,21	0,18	0,16	0,12	0,2	0,28	0,11	1

\*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; NS: no significativa

Salino	Alt-1	Alt-R1	Alt-2	Alt-R2	Alt-3	SPAD	Nmac1	Nmac2	Nmac3	PS1	PS2	PS3	PMSA	K/Na	TCD	AFE
Alt-1	1	NS	***	***	***	NS	0,04	NS	NS	***	0,03	0,01	***	NS	NS	NS
Alt-R1	0,19	1	***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alt-2	0,65	0,41	1	***	***	*	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	**	NS	NS
Alt-R2	0,37	0,31	0,47	1	***	NS	NS	***	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alt-3	0,43	0,29	0,62	0,56	1	*	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS
SPAD	-0,01	0,02	-0,2	-0,18	-0,2	1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS
Nmac1	0,2	0,04	-0,04	-0,11	-0,16	-0,02	1	***	***	***	***	***	***	NS	NS	NS
Nmac2	0,04	-0,11	-0,18	-0,33	-0,39	0,01	0,67	1	***	***	***	***	***	NS	NS	*
Nmac3	-0,05	-0,07	-0,17	-0,26	-0,31	0,17	0,61	0,67	1	***	***	***	***	NS	NS	*
PS1	0,41	0,07	0,24	-0,04	-0,02	-0,05	0,61	0,61	0,59	1	***	***	***	NS	NS	NS
PS2	0,21	0,14	0,08	-0,18	-0,18	0,13	0,56	0,68	0,61	0,73	1	***	***	NS	NS	NS
PS3	0,25	0,12	0,14	0,1	0,05	-0,02	0,53	0,59	0,54	0,69	0,64	1	***	NS	NS	*
PMSA	0,33	0,12	0,17	-0,06	-0,06	0,03	0,64	0,7	0,65	0,92	0,9	0,85	1	NS	NS	NS
K/Na	-0,16	-0,12	-0,21	0,1	0,13	0,12	0	-0,06	0,04	-0,16	-0,13	-0,02	-0,12	1	NS	NS
TCD	0,09	0,12	0,16	0,11	0,28	-0,26	0,04	-0,13	-0,11	-0,03	-0,17	0,04	-0,07	-0,02	1	NS
AFE	-0,01	-0,02	-0,08	-0,17	-0,12	0,04	0,12	0,24	0,21	0,05	0,16	0,21	0,15	-0,05	-0,09	1

\*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; NS: no significativa

Salino-Sódico	Alt-1	Alt-R1	Alt-2	Alt-R2	Alt-3	SPAD	Nmac1	Nmac2	Nmac3	PS1	PS2	PS3	PMSA	K/Na	TCD	AFE
Alt-1	1	***	***	***	***	NS	NS	NS	NS	***	***	*	***	*	NS	NS
Alt-R1	0,45	1	***	***	***	NS	***	NS	NS	NS	**	**	*	NS	NS	NS
Alt-2	0,66	0,59	1	***	***	NS	NS	NS	NS	*	***	*	***	**	NS	NS
Alt-R2	0,31	0,51	0,49	1	***	*	*	NS	NS	NS	**	**	*	NS	NS	NS
Alt-3	0,36	0,5	0,48	0,67	1	**	NS	NS	NS	NS	**	*	**	NS	NS	NS
SPAD	0	0,12	0,01	0,23	0,26	1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
Nmac1	0,06	-0,34	-0,15	-0,22	-0,18	-0,06	1	***	***	***	*	NS	***	NS	NS	NS
Nmac2	-0,08	-0,2	-0,03	0	-0,05	0,03	0,44	1	***	***	***	*	***	***	NS	NS
Nmac3	-0,04	0,06	0,04	0,18	0,18	0,16	0,3	0,58	1	***	***	***	***	***	NS	NS
PS1	0,44	0,04	0,25	0,02	0,13	0,03	0,63	0,45	0,5	1	***	NS	***	NS	NS	NS
PS2	0,32	0,27	0,33	0,27	0,28	0,12	0,25	0,5	0,64	0,68	1	***	***	NS	NS	NS
PS3	0,21	0,27	0,22	0,29	0,22	0,05	-0,07	0,21	0,33	0,12	0,29	1	***	NS	NS	NS
PMSA	0,44	0,22	0,34	0,21	0,26	0,08	0,42	0,52	0,64	0,86	0,86	0,53	1	NS	NS	NS
K/Na	-0,23	-0,04	-0,27	-0,03	-0,02	0,21	0,15	0,31	0,35	0,17	0,12	0,02	0,14	1	NS	NS
TCD	0,01	0,09	0,1	0	-0,01	-0,02	0,01	-0,01	-0,03	0,1	0,03	-0,12	0,02	0,11	1	NS
AFE	-0,12	0,1	-0,03	-0,1	-0,09	0,02	-0,03	-0,02	0,11	-0,12	-0,02	0,1	-0,04	0,06	-0,01	1

\*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; NS: no significativa

**Tabla 3.VIII:** Autovalores (i) y Autovectores (ii) correspondiente al análisis de componentes principales, considerando las 16 variables analizadas para cada tratamiento.

(i) Autovalores												
Lambda	CONTROL			SÓDICO			SALINO			SALINO-SÓDICO		
	Valor	Proporción	Prop Acum	Valor	Proporción	Prop Acum	Valor	Proporción	Prop Acum	Valor	Proporción	Prop Acum
1	5,04	0,31	0,31	5,35	0,33	0,33	6,08	0,38	0,38	6,33	0,40	0,40
2	3,86	0,24	<b>0,56</b>	3,55	0,22	<b>0,56</b>	3,5	0,22	<b>0,60</b>	3,39	0,21	<b>0,61</b>
3	1,86	0,12	0,67	1,56	0,10	0,65	1,36	0,09	0,68	1,40	0,09	0,69
4	1,20	0,08	0,75	1,26	0,08	0,73	1,15	0,07	0,76	1,12	0,07	0,76
5	0,97	0,06	0,81	1,07	0,07	0,80	0,80	0,05	0,81	0,97	0,06	0,83
6	0,87	0,05	0,86	0,84	0,05	0,85	0,79	0,05	0,86	0,76	0,05	0,87
7	0,50	0,03	0,89	0,70	0,04	0,89	0,67	0,04	0,90	0,49	0,03	0,90
8	0,40	0,02	0,92	0,46	0,03	0,92	0,54	0,03	0,93	0,34	0,02	0,92
9	0,32	0,02	0,94	0,44	0,03	0,95	0,36	0,02	0,95	0,31	0,02	0,94
10	0,29	0,02	0,96	0,27	0,02	0,97	0,28	0,02	0,97	0,26	0,02	0,96
11	0,19	0,01	0,97	0,17	0,01	0,98	0,14	0,01	0,98	0,21	0,01	0,97
12	0,17	0,01	0,98	0,15	0,01	0,99	0,11	0,01	0,99	0,15	0,01	0,98
13	0,16	0,01	0,99	0,10	0,01	0,99	0,09	0,01	0,99	0,12	0,01	0,99
14	0,12	0,01	1,00	0,05	0,0034	1,00	0,09	0,01	1,00	0,08	0,01	1,00
15	0,05	3,10E-03	1,00	0,04	2,60E-03	1,00	0,04	2,50E-03	1,00	0,07	4,40E-03	1,00
16	0,01	4,70E-04	1,00	0,0029	1,80E-04	1,00	2E-04	1,50E-05	1,00	0,003	1,80E-04	1,00

(ii) Autovectores								
Variables	CONTROL		SÓDICO		SALINO		SALINO-SÓDICO	
	e1	e2	e1	e2	e1	e2	e1	e2
Alt-1	-0,06	0,42	0,09	<b>0,42</b>	0,14	<b>0,41</b>	0,25	0,34
Alt-R1	-0,08	0,33	0,13	0,37	0,02	0,37	0,22	0,33
Alt2	-0,22	<b>0,37</b>	0,10	<b>0,43</b>	0,03	<b>0,49</b>	0,25	0,36
Alt-R2	-0,07	<b>0,37</b>	-0,17	0,38	-0,08	0,36	0,07	0,37
Alt-3	-0,23	<b>0,36</b>	-0,07	0,41	-0,11	0,39	0,24	0,32
Nmac1	<b>0,36</b>	-0,16	<b>0,37</b>	-0,12	0,34	-0,07	0,27	-0,25
Nmac2	<b>0,38</b>	0,04	<b>0,36</b>	-0,18	<b>0,37</b>	-0,1	0,27	-0,32
Nmac3	<b>0,38</b>	-0,01	0,28	-0,16	0,34	-0,15	0,25	-0,28
SPAD	-0,10	-0,03	0,09	-0,02	0,02	-0,09	0,18	0,04
PS1	<b>0,38</b>	0,16	<b>0,39</b>	0,12	<b>0,37</b>	0,12	0,35	-0,12
PS2	<b>0,28</b>	0,31	<b>0,39</b>	0,07	<b>0,37</b>	0,08	0,34	-0,11
PS3	<b>0,28</b>	0,22	0,23	0,18	<b>0,37</b>	0,05	0,23	-0,06
K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup>	0,02	-0,05	0,10	-0,16	-0,06	-0,23	0,09	-0,32
PMSA	<b>0,38</b>	0,24	<b>0,41</b>	0,12	<b>0,39</b>	0,09	<b>0,37</b>	-0,11
TCD	-0,11	0,10	0,06	0,06	-0,02	0,07	0,09	-0,07
AFE	-0,01	-0,19	0,19	-0,15	0,16	-0,20	-0,28	-0,13

**Tabla 3.IX:** Análisis de la varianza para el índice de tolerancia (IT) en los tres momentos de corte (PS1, PS2, PS3) y para la producción de materia seca acumulada (PMSA).

**IT para PS1: 30 días desde aplicados los tratamientos**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	9.58	177	0.05	2.75	<0.0001	
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>2.61</b>	<b>2</b>	<b>1.31</b>	<b>22.59</b>	<b>0.0066</b>	<b>(TRATAMIENTO*BLOQUE)</b>
BLOQUE	0.23	2	0.12	5.91	0.0035	
TRATAMIENTO*BLOQUE	0.23	4	0.06	2.94	0.0228	
<b>GENOTIPO</b>	<b>1.81</b>	<b>34</b>	<b>0.05</b>	<b>2.71</b>	<b>&lt;0.0001</b>	
TRATAMIENTO*GENOTIPO	1.52	68	0.02	1.14	0.2611	
GENOTIPO*BLOQUE	3.17	67	0.05	2.41	<0.0001	
Error	2.63	134	0.02			
Total	12.22	311				

**IT para PS2: 60 días desde aplicados los tratamientos**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	5.46	178	0.03	4.89	<0.0001	
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>1.71</b>	<b>2</b>	<b>0.86</b>	<b>28.73</b>	<b>0.0042</b>	<b>(TRATAMIENTO*BLOQUE)</b>
BLOQUE	0.11	2	0.05	8.65	0.0003	
TRATAMIENTO*BLOQUE	0.12	4	0.03	4.75	0.0013	
<b>GENOTIPO</b>	<b>2.14</b>	<b>34</b>	<b>0.06</b>	<b>10.05</b>	<b>&lt;0.0001</b>	
<b>TRATAMIENTO*GENOTIPO</b>	<b>0.66</b>	<b>68</b>	<b>0.01</b>	<b>1.54</b>	<b>0.0168</b>	
GENOTIPO*BLOQUE	0.72	68	0.01	1.69	0.0050	
Error	0.85	136	0.01			
Total	6.31	314				

**IT para PS3: 90 días desde aplicados los tratamientos**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	13.77	178	0.08	3.58	<0.0001	
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>5.63</b>	<b>2</b>	<b>2.81</b>	<b>56.82</b>	<b>0.0012</b>	<b>(TRATAMIENTO*BLOQUE)</b>
BLOQUE	1.72	2	0.86	39.88	<0.0001	
TRATAMIENTO*BLOQUE	0.20	4	0.05	2.29	0.0628	

<b>GENOTIPO</b>	<b>1.93</b>	<b>34</b>	<b>0.06</b>	<b>2.63</b>	<b>&lt;0.0001</b>
TRATAMIENTO*GENOTIPO	1.82	68	0.03	1.23	0.1501
GENOTIPO*BLOQUE	2.47	68	0.04	1.68	0.0056
Error	2.94	136	0.02		
Total	16.71	314			

## IT para PMSA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	4.57	178	0.03	4.48	<0.0001	
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>1.53</b>	<b>2</b>	<b>0.76</b>	<b>120.25</b>	<b>0.0003</b>	<b>(TRATAMIENTO*BLOQUE)</b>
BLOQUE	0.10	2	0.05	9.01	0.0002	
TRATAMIENTO*BLOQUE	0.03	4	0.01	1.11	0.3551	
<b>GENOTIPO</b>	<b>1.64</b>	<b>34</b>	<b>0.05</b>	<b>8.41</b>	<b>&lt;0.0001</b>	
TRATAMIENTO*GENOTIPO	0.50	68	0.01	1.29	0.1067	
GENOTIPO*BLOQUE	0.78	68	0.01	1.99	0.0003	
Error	0.78	136	0.01			
Total	5.35	314				



Tabla 3.X: Índice de tolerancia para cada genotipo en los tres ambientes

GENOTIPO	IT-PMSA ± E.E					
	Sódico		Salino		Salino-Sódico	
1	0,44 ±	0,02	0,41 ±	0,01	0,28 ±	0,01
2	0,38 ±	0,01	0,26 ±	0,04	0,19 ±	0,02
3	0,44 ±	0,08	0,42 ±	0,06	0,28 ±	0,06
4	0,52 ±	0,03	0,55 ±	0,04	0,42 ±	0,07
5	0,43 ±	0,03	0,39 ±	0,01	0,27 ±	0,03
6	0,49 ±	0,05	0,45 ±	0,05	0,27 ±	0,07
7	0,48 ±	0,06	0,36 ±	0,06	0,36 ±	0,04
8	0,40 ±	0,06	0,36 ±	0,07	0,15 ±	0,01
9	0,46 ±	0,06	0,38 ±	0,06	0,26 ±	0,05
10	0,37 ±	0,08	0,35 ±	0,05	0,28 ±	0,02
11	0,36 ±	0,04	0,37 ±	0,06	0,22 ±	0,10
12	0,10 ±	0,04	0,18 ±	0,02	0,04 ±	0,02
13	0,08 ±	0,06	0,30 ±	0,10	0,08 ±	0,06
14	0,41 ±	0,03	0,32 ±	0,01	0,26 ±	0,04
15	0,50 ±	0,05	0,37 ±	0,02	0,24 ±	0,07
16	0,43 ±	0,10	0,35 ±	0,06	0,12 ±	0,03
17	0,45 ±	0,04	0,54 ±	0,02	0,31 ±	0,06
18	0,37 ±	0,06	0,42 ±	0,02	0,27 ±	0,05
19	0,27 ±	0,04	0,33 ±	0,03	0,16 ±	0,02
20	0,49 ±	0,09	0,45 ±	0,04	0,30 ±	0,04
21	0,33 ±	0,06	0,46 ±	0,06	0,27 ±	0,03
22	0,45 ±	0,02	0,51 ±	0,06	0,29 ±	0,03
23	0,48 ±	0,03	0,45 ±	0,01	0,27 ±	0,03
24	0,35 ±	0,11	0,52 ±	0,01	0,27 ±	0,02
25	0,32 ±	0,05	0,33 ±	0,00	0,26 ±	0,01
26	0,47 ±	0,08	0,44 ±	0,04	0,26 ±	0,02
27	0,45 ±	0,03	0,32 ±	0,10	0,24 ±	0,07
28	0,39 ±	0,12	0,38 ±	0,01	0,28 ±	0,06
29	0,35 ±	0,04	0,37 ±	0,04	0,22 ±	0,03
30	0,45 ±	0,04	0,48 ±	0,07	0,29 ±	0,03
31	0,39 ±	0,06	0,43 ±	0,03	0,22 ±	0,06
32	0,41 ±	0,01	0,34 ±	0,02	0,21 ±	0,02
33	0,37 ±	0,02	0,33 ±	0,05	0,30 ±	0,06
34	0,36 ±	0,01	0,29 ±	0,05	0,18 ±	0,06
35	0,37 ±	0,11	0,45 ±	0,05	0,23 ±	0,07