



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Campo Experimental Villarino C.C. N° 14
S2125ZAA | Zavalla | Santa Fe | Argentina
Tel/Fax: +54 0341 497-0080
www.fcagr.unr.edu.ar
agro@unr.edu.ar



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**“Evaluación comparativa de distintas estrategias de análisis de
datos para la caracterización y ordenamiento de la variabilidad
genética de poblaciones locales de maíz (*Zea mays* L.)”**

Ing. Agr. (Mg) Raquel Alicia Defacio

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

DIRECTOR: Dr. Sergio Bramardi

CO- DIRECTOR: Dr. Guillermo Pratta

AÑO: 2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Campo Experimental Villarino C.C. N° 14
S2125ZAA | Zavalla | Santa Fe | Argentina
Tel/Fax: +54 0341 497-0080
www.fcagr.unr.edu.ar
agro@unr.edu.ar

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE
ANÁLISIS DE DATOS PARA LA CARACTERIZACIÓN Y ORDENAMIENTO
DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES LOCALES DE MAÍZ
(*Zea mays* L.)**

Raquel Alicia Defacio
Ingeniera Agrónoma – Universidad Nacional de Rosario

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 presentado para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Banco de Germoplasma de la EEA INTA Pergamino, durante el período comprendido entre 2003 y 2013, bajo la dirección del Ing. Agr. (Mg) Marcelo Ferrer y la Ing. Agr. (Mg) Raquel Defacio.

Raquel A. Defacio

Dr. Sergio J. Bramardi

Dr. Guillermo R. Pratta

Defendida: 18 de agosto de 2017

AGRADECIMIENTOS

A mis padres que siempre creyeron en mí y me dieron la oportunidad de desarrollarme humana y profesionalmente.

A Lucas por su tolerancia y su apoyo incondicional, brindándome contención en todo momento.

Al Dr. Sergio Bramardi y al Dr. Guillermo Pratta quienes entendieron cada una de las situaciones que se fueron presentando a lo largo del desarrollo de la tesis y me orientaron en cada uno de esos momentos. De ellos aprendí mucho desde el punto de vista técnico, profesional y humano.

Al Ing. Agr. (M.Sc.) Marcelo Ferrer quien con un trabajo silencioso apuntaló cada uno de mis pasos.

A Lorena, Fabián, Gregorio y Carlos sin quienes este trabajo nunca hubiese llegado a realizarse.

A la Dra. Andrea Lavalle, a la Lic. (Mg) Paola Zuliani y a la Prof. Marta Marticorena que hicieron un enorme esfuerzo para que la tesis pueda llevarse a cabo, haciéndome comprender métodos matemáticos y estadísticos desde un punto de vista muy sencillo.

A la Lic. (Mg., PhD) Juliana Iglesias que siempre estuvo con una palabra de aliento y ejerciendo presión para que este momento llegara.

Al INTA y a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario que me permitieron realizar mi formación profesional.

DEDICATORIA

A Tomás, Juan Ignacio y Pilar

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

Lavalle, A.; Defacio, R.; Bramardi, S.; De Leo, M. (2016). Propuesta metodológica para el diseño y análisis de datos en ensayos de caracterización de bancos de germoplasma de INTA. V Latin American Workshop on Optimization and Control. Tandil, Argentina.

Lavalle, A.; Bramardi, S.; Defacio, R. (2015). Análisis multivariado a tres vías aplicado a datos provenientes de ensayos con diseños desbalanceados. Congreso de Matemática Aplicada, Computacional e Industrial. Tandil, Argentina.

Lavalle, A.; Bramardi, S.; Defacio, R. (2015). Eficiencia de la metodología "Análisis de Procrustes Generalizado" para el tratamiento de datos a tres vías provenientes de diseños desbalanceados. XLIII Coloquio Argentino de Estadística - XX Reunión Científica del GAB. Buenos Aires, Argentina.

Marticorena M., Defacio R., Bramardi S. (2015). Biplot interactivo y biplot múltiple en el análisis de datos multivariantes de tres vías. Argentina. 1 ° Congreso Argentino de Estadística (CAE I) - XLIII Coloquio Argentino de Estadística - XX Reunión Científica del GAB. Buenos Aires, Argentina.

Zuliani R.; Lavalle A.; Bramardi S.; Defacio R. (2012). Alternativas de análisis para datos a tres modos con variables cuantitativas: ACP vs AFM. X Congreso Latinoamericano de Sociedades de Estadística. Córdoba. Resúmenes, pág. 75. ISBN 978-987-9363-46-1

Marticorena, M; Bramardi, S; Defacio, R. y Boche, S. (2011). Estudio de variabilidad genética mediante análisis de datos de tres vías. XXXIX Coloquio Argentino de Estadística. Santa Fe, Argentina. Pp. 171-172.

Defacio R., Bramardi S., Pratta G.R., Boche S. (2011). Estudio comparativo de dos metodologías para la caracterización de recursos genéticos evaluados en diferentes condiciones ambientales. XXXIX Coloquio Argentino de Estadística. Santa Fe, Argentina. Pp. 149-150.

Bramardi, S.; Lavalle, A.; Marticorena, M.; Reeb, P.; Defacio, R.; González, C. (2010). Estudio comparativo de métodos de análisis de datos a tres vías para la caracterización de recursos fitogenéticos evaluados en diferentes ambientes. XXV International Biometric Conference. Florianópolis, SC, Brasil.

Marticorena, M.; Bramardi, S.; Defacio, R. (2010). Characterization of maize populations in different environmental conditions by means of Three-Mode Principal Components Analysis. *Cien. Inv. Agr.* 37(3):91-103.

ÍNDICE

CAPÍTULO I- INTRODUCCION	1
CAPÍTULO II- OBJETIVOS	17
II-1. Objetivo general	17
II-2. Objetivos específicos.....	17
CAPÍTULO III- MATERIALES Y MÉTODOS	19
III-1. Material vegetal	19
III-2. Ensayo de referencia.....	23
III-3. Variables evaluadas	24
CAPÍTULO IV - ESTRATEGIAS DE ANÁLISIS PARA EL ESTUDIO DE CARACTERES INFLUENCIABLES POR EL AMBIENTE	27
IV-1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
IV-1.1. Material vegetal	27
IV-1.2. Metodología	27
IV-2. RESULTADOS	30
IV-2.1. Modelo de efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos (AMMI).....	30
IV-2.2. Análisis Factorial Múltiple (AFM)	38
IV-3. DISCUSIÓN	42
CAPÍTULO V- INTEGRACIÓN DE INFORMACIÓN PROVENIENTE DE DIFERENTES ENSAYOS DE CARACTERIZACIÓN	46
V-1. MATERIAES Y METODOS.....	46
V-1.1. Material vegetal	46
IV-1.2. Metodología	46
V-1.3. Comparación de metodologías	55
V-2. RESULTADOS	56
V-2.1. Ensayo de referencia	56
V-2.2. Metodologías alternativas para la caracterización conjunta de poblaciones	59
V-2.3. Comparación de metodologías	67
V-3. DISCUSIÓN	68
CAPÍTULO VI- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL EVALUADO EN EL BAP.....	74
VI-1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	74
VI-1.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada	74
VI-1.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos	74

VI-1.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta	74
VI-1.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas	75
VI-2. RESULTADOS	77
VI-2.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada	77
VI-2.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos	81
VI-2.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta	83
VI-2.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas	89
VI-3. DISCUSIÓN	90
VI-3.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada	90
VI-3.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos	91
VI-3.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta	92
VI-3.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas	95
CAPÍTULO VII- CONSIDERACIONES FINALES	98
CAPÍTULO VIII- BIBIOGRAFÍA.....	101
ANEXO I	112

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

ACP: Análisis de Componentes Principales
ACooP: Análisis de Coordenadas Principales
AFM: Análisis Factorial Múltiple
AGR: Ancho de Grano
ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior
ALTPL: Altura de Planta
AMMI: Efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos
ANOVA: Análisis de la Variancia
APG: Análisis de Procrustes Generalizado
BAP: Banco Activo de Germoplasma de Pergamino
CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
CN: Colección Núcleo
CP: Componentes Principales
DMZ: Diámetro de Mazorca
EEA: Estación Experimental Agropecuaria
GDUF: Tiempo Térmico a Floración Femenina
GDUM: Tiempo Térmico a Floración Masculina
GRHIL: Granos por Hilera
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
LGR: Largo de Grano
LMZ: Longitud de Mazorca
MST: Árbol de Mínima Distancia
NHIL: Número de Hileras
P1000: Peso de 1000 Granos
PORQ: Porcentaje de Quebrado
PORV: Porcentaje de Vuelco
PROL: Prolificidad
REND: Rendimiento

RESUMEN

El maíz, siendo un cereal originario de América, presenta a lo largo de este continente una amplia variabilidad de tipos y formas. Sin embargo dicha variabilidad es muy poco utilizada por los fitomejoradores, por desconocimiento del comportamiento de las poblaciones conservadas y por la dificultad de introgresar características deseables sin incorporar caracteres desfavorables ligados a los mismos. Por dicho motivo resulta de fundamental importancia estudiar y analizar en la forma más exhaustiva posible las poblaciones conservadas en los Bancos de Germoplasma. En el presente trabajo se evaluaron 510 poblaciones locales de maíz conservadas en el Banco Activo de Germoplasma de Pergamino, de diversos orígenes y formas raciales, por 16 caracteres cuantitativos y cuatro cualitativos. Las poblaciones se distribuyeron en 13 ensayos comparativos a lo largo de siete campañas agrícolas a partir del 2003/04 hasta el 2009/10. Cada ensayo se evaluó en dos ambientes que surgen de la combinación de localidad y campaña agrícola. Todos los ensayos contaban con cuatro testigos comunes. Como uno de los objetivos de este trabajo, consistía en evaluar comparativamente estrategias metodológicas para la caracterización conjunta de poblaciones caracterizadas en diferentes ensayos, cuatro de los 13 ensayos volvieron a repetirse en uno solo que se utilizó como ensayo de referencia. El mismo se evaluó en las localidades de Pergamino y Ferré durante la campaña agrícola 2010/11. Debido a que las variables evaluadas son factibles de ser influenciadas por el ambiente en el ensayo de referencia se aplicaron distintas técnicas de análisis de la interacción genotipo-ambiente. En primer lugar se recurrió al ANOVA que permitió determinar la presencia de dicha interacción y, en las variables en que la misma fue significativa, se profundizó el estudio mediante un AMMI. Por otro lado, se recurrió al método de Análisis Factorial Múltiple (AFM) para determinar la factibilidad del uso de esta técnica del Análisis Multivariado de tres modos para el tratamiento de la interacción. Con ambos tipos de análisis, se determinó la presencia de interacción en las variables sincronía entre las floraciones femenina y masculina, prolificidad, rendimiento, granos por hilera, porcentaje de quebrado y longitud de mazorca. Si bien con ambas metodologías se obtuvo un resultado similar, el AFM proporciona información más rica, sobre todo en las interpretaciones referidas al ambiente. Además, estudia la interacción genotipo-ambiente desde el punto de vista multivariado pudiendo determinarse las interacciones entre las variables evaluadas.

Posteriormente, se compararon tres estrategias para caracterizar en forma conjunta el material evaluado en distintas condiciones. Como fuente de comparación se utilizó el ensayo de referencia, ya que en el mismo todas las poblaciones fueron

evaluadas en los mismos ambientes. Las estrategias consideradas, que se compararon mediante la aplicación del test de Mantel, fueron: (i) cálculo del promedio aritmético y concatenación de ensayos sin considerar efecto ensayo ni ambiente, (ii) planteo de un modelo lineal mixto que permita estimar y eliminar los efectos ambiente, ensayo y sus interacciones, y (iii) uso del Análisis de Procrustes Generalizado (APG) para el tratamiento de datos provenientes de ensayos incompletos conectados por individuos comunes. De la comparación de las tres estrategias alternativas se determinó que la técnica del promedio resultó ser la más conveniente para agrupar las poblaciones locales, si el objetivo es sólo considerar la similitud entre las mismas. Esta metodología, si bien es más rudimentaria desde el punto de vista estadístico, es muy sencilla de aplicar y ampliamente utilizada por los investigadores. A pesar de ello no pueden diferenciarse los efectos del ambiente y sus interacciones las cuales son muy importantes desde el punto de vista genético.

Una vez seleccionada la metodología del promedio como la más adecuada para evaluar las variables cuantitativas de todos los ensayos en forma conjunta, la misma se aplicó a las 510 poblaciones. Sobre estos datos se realizó un ACP. Por otra parte se analizaron las variables cualitativas de las 510 poblaciones mediante la metodología de ACooP. Ambos tipos de datos aportan información complementaria, y el análisis en forma conjunta se realizó aplicando la metodología del APG. En todos los casos, los resultados se expresaron en un gráfico bidimensional. A través del ACP para las variables cuantitativas se obtuvieron seis grupos de poblaciones en base a su similitud, siendo las variables rendimiento, días a floración, altura de planta e inserción de mazorca y sincronía entre las floraciones femenina y masculina las más importantes en la diferenciación entre las mismas. Mediante el ACooP se obtuvieron nueve grupos de poblaciones. Utilizando el APG se conformaron seis grupos, pudiendo determinarse algunas poblaciones en que ambas variables las posicionan de manera similar en el plano (ARZM01045) y otras que son muy diferentes para cada una de las variables evaluadas (ARZM04012). Por último, detectada la variabilidad genética entre las poblaciones resulta interesante evaluar si la misma tiene relación con el origen geográfico para lo cual se comparan ambas matrices de distancia mediante el test de Mantel, hallando una correlación media-baja ($r = 0,41$) entre las distancias genéticas entre las poblaciones y las geográficas. Esto determinaría que la variabilidad registrada no puede ser fundamentalmente explicada por la zona de colecta de las poblaciones.

ABSTRACT

COMPARATIVE EVALUATION OF DIFFERENT DATA ANALYSIS STRATEGIES FOR GENETIC VARIABILITY CHARACTERIZATION AND ORDINATION OF MAIZE (*Zea mays* L.) LANDRACES

Available maize genetic variability has been poorly used in plant breeding. Evaluation and characterization of genetic variability preserved in germplasm banks is important to increase its utilization. In this study, 510 maize landraces from the Pergamino maize germplasm bank were evaluated by 16 quantitative and four qualitative traits. The accessions were divided into 13 trials using four common checks, each trial was planted in two environments. Four of these trials were gathered in a reference trial and repeated at two locations. Data from reference trial was analyzed using an ANOVA; when genotype x environment (GE) interaction was significant the Additive Main effects and Multiplicative Interaction (AMMI) methodology was performed. In order to determine the possibility to use three way analysis for the GE interaction evaluation, the Multiple Factorial Analysis (MFA) was used. GE interaction was found for anthesis-silking interval (ASI), prolificacy, yield, grains by row, root lodging and ear length with both methods. Multivariate approach of the GE interaction, obtained through MFA, provided richer information than that from AMMI. Then, three analysis strategies were compared through Mantel test to perform the evaluation of combined trials, using the reference trial as standard comparison. Strategies consisted of: (i) arithmetic mean, (ii) mixed linear model, and (iii) three way Generalized Procrustes Analysis (GPA). The arithmetic mean was selected as the most accurate to group landraces, although it is not able to discriminate between environment and its interaction effects, which are highly important from the genetic perspective. This selected methodology was applied to quantitative traits for the whole set of 510 landraces, and latter grouped by PCA. Six groups were obtained, in which yield, anthesis and silking date, plant and ear height and ASI descriptors provided the greatest contribution to the clustering. Principal Coordinate Analysis (PCoA) methodology was used for qualitative traits; defining nine groups. Quantitative and qualitative traits were gathered in a joint analysis by the GPA technique which built six groups. Correlation among genetic variability and geographic origin of landraces, determined by Mantel test, was moderate-low ($r = 0,41$). This showed a lack of linear relationship between them.

CAPÍTULO I- INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays L.*) es una monocotiledónea anual que pertenece a la familia *Poaceas (Gramíneas)* tribu *Maydeas* y género *Zea* (Paliwal, 2001). Es una especie domesticada en el sur de México (Hanelt, 2001) y ha sido en América el cereal más importante para la alimentación humana durante miles de años, utilizado usualmente en forma de harina para elaborar panes y tortas (Paliwal, 2001).

Según datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 2016), el maíz es el primer cultivo alimenticio en importancia en el mundo con una producción mundial para la campaña 2015/16 de 959,03 millones de tn., ubicándose por encima del trigo (724,8) y del arroz (471,7). Los principales países productores son Estados Unidos, China, Brasil, Unión Europea, Argentina, México, Ucrania e India. En Argentina, en la campaña 2015/16 se produjeron 33,81 millones de toneladas (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2016) y se exportaron 15,5 millones de tn, siendo el sexto productor y el cuarto exportador a nivel mundial. Las exportaciones de nuestro país son sólo superadas por Estados Unidos, Brasil y Ucrania (Bolsa de Comercio de Rosario, 2015).

El uso principal de este cultivo en la actualidad es en la preparación de balanceados para la alimentación animal. Para la alimentación humana se utiliza el maíz dulce o se consume en forma de harina, siendo la base energética en muchos países de América Latina y África. La parte vegetativa de la planta se utiliza como forraje para el ganado o para producir pasta de papel. Otros usos de importancia son la extracción de almidón, dextrina, azúcar, aceite, furfural, acetona y alcohol, destinados al consumo industrial (Satorre *et al.*, 2003).

Durante el proceso de domesticación, las especies utilizadas en la agricultura moderna han sufrido un cuello de botella que redujo su diversidad genética respecto a sus parientes silvestres. En el caso específico del maíz, durante su expansión desde su centro de origen se adaptó a diversos climas y tipos de suelo como los desiertos del sudoeste de Estados Unidos y las elevaciones de los Andes (Vigouroux *et al.*, 2008), como así también, a las costumbres de las civilizaciones locales (Esquinas Alcázar, 2005). Esto hizo que las plantas adquirieran características morfológicas y genéticas distintivas, adaptadas a las condiciones donde se desarrollaron. Así, cada grupo de plantas con características particulares, principalmente de mazorca y grano, fueron clasificadas como razas (Vigouroux *et al.*, 2008). A pesar de la gran diversidad que posee este cultivo en el continente americano, el desarrollo industrial, la mecanización de la agricultura y las necesidades y exigencias crecientes del mercado, forzaron a los

fitomejoradores a generar cultivos más uniformes, de rápido crecimiento, más productivos y de rendimiento estable a través del tiempo. Esta homogeneidad, que trae como consecuencia erosión génica y pérdida de variabilidad, hace que los cultivos sean más vulnerables a cualquier cambio ambiental y a la aparición de nuevas plagas y enfermedades (Esquinas Alcázar, 2005; Salhuana *et al.*, 1998; Troyer, 1988).

La pérdida de variabilidad, con el consiguiente incremento en la vulnerabilidad de las especies cultivadas, está sustentada por varios hechos que han sucedido a lo largo del tiempo. En la década de 1970, en Estados Unidos, el hongo *Exserohilum turcicum* destruyó más de la mitad del área sembrada con maíz en el sur de ese país debido a la susceptibilidad del citoplasma estéril T (Texas) a la enfermedad. El citoplasma T se encontraba presente en el 75-90% de los híbridos cultivados. En este y otros casos, el problema fue resuelto obteniendo variedades resistentes a través del mejoramiento genético, utilizando recursos genéticos de otras partes del mundo.

A raíz de este problema, se investigó en Estados Unidos la vulnerabilidad genética de los cultivos más importantes determinando por ejemplo, que el 96% de las arvejas cultivadas eran originadas de 9 variedades únicamente (Esquinas Alcázar, 2005). Troyer (2006) indica que los cinco cultivares de maíz de polinización libre más populares y ampliamente utilizados, constituyen el 87% del material genético de los híbridos de Estados Unidos. Este fenómeno es extrapolable a numerosos cultivos y países de todo el mundo y los datos más recientes indican que la situación es cada vez más alarmante (Esquinas Alcázar, 2005).

El uso de variedades locales y especies silvestres emparentadas con los cultivos puede aportar genes y por ende características de interés para el mejoramiento. La variedad primitiva de trigo Norin 10, originaria de Japón, tuvo un rol muy importante para el mejoramiento de trigo durante la revolución verde. Esta variedad fue usada como donante de genes que son los responsables del enanismo, el cual incrementa el consumo de nitrógeno y por ende la producción en sistema de cultivos intensivos. En el tomate cultivado (*Solanum lycopersum*), las especies silvestres han sido satisfactoriamente utilizadas como donantes de genes para obtener cultivares resistentes a insectos (*S. habrochaites*), a hongos (*S. habrochaites* y *S. peruvianum*), tolerante a sales (*S. cheesmanni*), resistentes a sequía (*S. pennellii*) y para mejorar la calidad de los frutos (*S. chmielewskii*). Las formas silvestres de la colección de *Beta* spp., realizada en el año 1920, fueron utilizadas en California en 1980 al descubrir que las mismas presentaban resistencia a *Rhizomania* como a otras enfermedades virales (Esquinas Alcázar, 2005).

Luna y Safont Lis (1978) analizaron la situación de las razas locales y las causas del incremento de la vulnerabilidad genética del maíz en Argentina, considerando que en la década de 1970, directa o indirectamente, poco más de diez líneas endocriadas contribuían a la formación de los híbridos disponibles y dos de ellas participaban en el 80 % de los híbridos de maíz Colorado existentes en ese momento. Por otra parte, los autores diferenciaron dentro del país dos zonas de producción: la región tradicional indígena y la región maicera principal. La primera abarca la región Andina del Noroeste y la Guaranítica del Noreste caracterizadas por una agricultura de subsistencia en las cuales se han cultivado una gran diversidad de razas de diferente textura y color de grano, que satisfacían necesidades y hábitos alimenticios de sus pobladores. En esta zona, el germoplasma ha sufrido variados grados de erosión genética por la sustitución por otros cultivos más rentables o por la introgresión con otro germoplasma que, si bien originan nuevas potencialidades, aceleran la pérdida del material genético con mayor variabilidad y adaptación. En la región maicera principal ubicada geográficamente en la Pampa Húmeda se cultivaba el “Maíz Plata”, de textura cristalina o cornea y grano de color anaranjado intenso. En la década de 1950, comienza a vislumbrarse las ventajas del uso de híbridos. Con ello ocurrió el paulatino desplazamiento de las poblaciones locales por cultivares mejorados, lo cual generó el reemplazo de la totalidad de las poblaciones de maíz de tipo Plata y de otros tipos por híbridos comerciales o por otros cultivos.

Ante esta evidencia, el Grupo de Mejoramiento de Maíz de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino, recolectó muestras de poblaciones locales (entradas o accesiones) en la Región Pampeana entre 1951 y 1963, y en el NOA entre 1965 y 1968 (Luna y Safont Lis, 1978). En el año 1969, se crea el Banco Activo de Germoplasma de maíz en la EEA-INTA Pergamino (BAP). Entre 1977 y 1994 se realizaron 11 nuevas giras de recolección que abarcaron 20 provincias (Ferrer *et al.*, 1998).

Como resultado de las sucesivas colectas, el BAP cuenta con 2.549 entradas que representan una amplia variabilidad. Sin embargo, la variabilidad conservada en este como en otros Bancos de Germoplasma es poco utilizada. Una de las mayores dificultades para su uso estriba en que, en general, se dispone de un conocimiento limitado del mérito genético de las mismas (Eyhérbide *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005), y en la dificultad de introgresar genes específicos en el material elite (Dudnik *et al.*, 2001) sin incorporar genes ligados que puedan transferir caracteres desfavorables (Castillo-González y Goodman, 1989; Fehr, 1987).

Para generar variabilidad, los programas de mejoramiento apelan al cruzamiento entre material elite (elite por elite). La persistencia de esta estrategia, si

bien resulta eficiente en el corto plazo, lleva a un estrechamiento paulatino de la base genética del germoplasma de las colecciones de trabajo de los fitomejoradores (Eyhéride, 2003), presentando una tasa de ganancia genética cada vez más reducida (López *et al.*, 2005). Vigouroux *et al.* (2008) señalan que el uso masivo de los cultivares mejorados posiblemente perjudiquen el desarrollo y mejoramiento futuro de las plantas domesticadas.

Castillo González y Goodman (1989) indican que alrededor del 4 o 5% de las poblaciones conservadas podrían utilizarse en forma inmediata en programas de mejoramiento genético debido a su valor agronómico. Sin embargo, los autores plantean que estos valores podrían ser muy superiores ante la ocurrencia de algunas enfermedades. Por lo mencionado, podemos afirmar que las poblaciones locales pueden contribuir al aumento de la variabilidad, siendo una fuente potencial de nuevos genes (Rincon *et al.*, 1997), presentando además una mejor adaptación a ambientes naturales y antropológicos en los que han evolucionado (Lucchin *et al.*, 2003). Varios autores, entre los que se encuentran Holland y Goodman (1995), Presello *et al.* (1996), Salhuana *et al.* (1998), Bertoia (2001), López *et al.* (2005) e Incógnito *et al.* (2013), arribaron a esta conclusión en sus trabajos.

Por lo descrito anteriormente, una adecuada cuantificación y descripción de la variabilidad conservada en los Bancos de Germoplasma es crítica para el mejoramiento en el futuro (Fundora Mayor *et al.*, 2004; Xiang *et al.*, 2010).

Usualmente, las poblaciones conservadas en los Bancos de Germoplasma son evaluadas y seleccionadas por atributos específicos para ser incorporadas a los programas de mejoramiento. A pesar de ello, la identificación de germoplasma potencialmente útil puede ser más efectivo si varios caracteres son considerados en forma simultánea (Rincon *et al.*, 1997).

Una vez realizadas las evaluaciones, para que el proceso de caracterización resulte de utilidad y cumpla con su verdadera función, el estudio y la catalogación de todo material genético previamente descrito deben completarse con un estudio de relaciones o asociaciones entre las poblaciones. Con este fin, el análisis estadístico, y dentro de él particularmente el análisis multivariado, pone a disposición un conjunto de herramientas muy diverso, existiendo muchas veces una amplia oferta de métodos alternativos para un mismo problema (Bramardi, 2000).

El análisis multivariado puede definirse como el conjunto de técnicas cuyo objetivo es el análisis descriptivo y/o la realización de inferencias a partir de datos en los que cada observación está constituida por los valores de un grupo de variables interrelacionadas. También pueden describirse como aquellos métodos estadísticos que analizan simultáneamente medidas múltiples (más de dos variables) de cada

individuo. Específicamente en relación a la evaluación de Recursos Genéticos se hace referencia a un conjunto de métodos de análisis de datos que tratan un gran número de mediciones sobre cada entrada o población (Franco e Hidalgo, 2003).

Entre los métodos clásicos de análisis multivariado que trabajan con matrices de Individuos por Variables, esto es con datos de "*dos vías o dos modos*", se encuentran el Análisis de Componentes Principales (ACP), Análisis de Coordenadas Principales (ACooP) y el conjunto de técnicas para la obtención de árboles, cluster o dendrogramas. En tales situaciones la información es representada mediante una "*matriz de dos vías*" de orden " $n \times p$ ", cuyas filas y columnas recogen los datos de " n " individuos o poblaciones y " p " variables respectivamente.

Tanto el ACP como el ACooP son métodos de ordenación mediante los cuales se pretende ordenar y representar gráficamente el material de estudio en un número de dimensiones reducidas. El análisis de cluster es un método de clasificación cuyo objetivo es la búsqueda de grupos similares, lo más homogéneos posible, en los cuales se clasifican los elementos a analizar (Bramardi, 2000).

El ACP comprende un procedimiento matemático cuyo objetivo es reducir el número de variables cuantitativas de respuesta correlacionadas entre sí, en un número menor de nuevas variables no correlacionadas (Johnson, 2000). Estas nuevas variables son una combinación lineal de las variables originales y explican la máxima variabilidad total, las que se denominan Componentes Principales (CP) (Bramardi, 2000). La contribución de las variables a cada CP se expresa por los valores propios (variancia asociada con el CP) y los vectores propios (coeficientes de las combinaciones lineales de cada una las variables originales) (Franco e Hidalgo, 2003). Esta metodología permite conocer i) la relación existente entre las variables cuantitativas, pudiéndose determinar cuáles se encuentran relacionadas y cuales caracterizan en el mismo sentido o en sentido contrario y, ii) la semejanza entre las poblaciones, pudiendo agruparlas en cuanto a sus similitudes y diferencias. Además, permite seleccionar aquellas variables que más discriminan entre las poblaciones, pudiendo limitarse el número de variables a registrar en evaluaciones posteriores (Franco e Hidalgo, 2003). La representación de las proyecciones de las observaciones en un espacio bidimensional favorece la interpretación de las CP (Peña, 2002).

El ACooP es similar al ACP pero aplicado al análisis de variables cualitativas. Esta técnica permite agrupar a las poblaciones en base a su similitud o distancia aunque, a diferencia del ACP las distancias entre los puntos no pueden describirse en función de las variables originales (Bramardi, 2000). Por lo mencionado, no permite determinar qué variables caracterizan a las poblaciones. Del mismo modo que el ACP,

el ACooP se representa gráficamente en dos dimensiones lo que facilita la interpretación del análisis.

El análisis de cluster o agrupamiento intenta clasificar a las poblaciones en base a sus semejanzas fenotípicas y/o genotípicas valoradas a partir de un coeficiente de similitud (Bramardi, 2000). Existen dos tipos de agrupamientos denominados cluster jerárquicos y no jerárquicos. En el primero, en un principio cada población forma un conglomerado, las cuales por aproximaciones sucesivas se van uniendo con otros grupos (Franco e Hidalgo, 2003). Al unirse dos grupos, estos pierden su identidad individual y se referencian como un cluster simple. El proceso finaliza cuando los dos últimos cluster se unen en un único conglomerado que contiene a todas las poblaciones originales (Bramardi, 2000). Los resultados se representan gráficamente como un diagrama de árbol o dendrograma (Franco e Hidalgo, 2003). En los cluster no jerárquicos, se forma un número prefijado de grupos homogéneos, con la máxima diversidad entre ellos. Los diferentes grupos no están relacionados entre sí y no se encuentran organizados jerárquicamente (Bramardi 2000).

Utilizando las metodologías de Cluster y ACP para variables morfológicas cuantitativas, varios autores clasificaron y agruparon poblaciones locales de maíz de diversas partes del mundo. A partir de la evaluación de 30 poblaciones originarias de Nigeria, Alike *et al.* (1993) formaron cinco grupos con características distintivas. Igual número de grupos se obtuvieron al estudiar 262 poblaciones de Francia (Gouesnard *et al.* 1997) y 134 mexicanas (Gaspar *et al.*, 2010). Sánchez *et al.* (2007) agruparon 70 poblaciones originarias de Brasil y áreas adyacentes en siete grupos y Harada *et al.* (2009) formaron ocho grupos a partir de datos registrados en 105 poblaciones japonesas.

Mediante la técnica de ACooP para variables cualitativas, Pinheiro de Carvalho *et al.* (2008) conformaron cuatro grupos a partir de 43 poblaciones locales de maíz originarias del Archipiélago de Madeira (Portugal) y Defacio (2009), evaluando 145 poblaciones locales argentinas del mismo cereal, determinó seis grupos.

A pesar de contar con numerosas técnicas de análisis como las mencionadas anteriormente, el número de individuos a caracterizar en los bancos de germoplasma, generalmente ronda el orden de los miles y la cantidad de variables o atributos medidos es mayor a diez (Cossa *et al.*, 1995), lo que obliga a que en las evaluaciones a campo deban distribuirse en varios ensayos manejables experimentalmente (que a su vez representan más de una condición ambiental). Esto origina que diferentes conjuntos de entradas o poblaciones sean evaluados en condiciones ambientales distintas. Si bien las variables medidas en cada ensayo son las mismas, las poblaciones y los ambientes no lo son, pudiendo surgir además la interacción entre

estos dos últimos efectos. Esta interacción genotipo (poblaciones) - ambiente se debe a que las poblaciones locales presentan cierta plasticidad fenotípica permitiendo su adaptación de forma diferente a condiciones ambientales específicas. Al existir la posibilidad de que las variables evaluadas sean afectadas por el ambiente y la interacción genotipo – ambiente, se presentan muchas dificultades cuando el objetivo que se persigue es la caracterización en forma simultánea de todos los grupos de poblaciones. Esta problemática en el análisis de los datos, ha sido generalmente obviada, con la consecuente pérdida de calidad de la información, o bien tratada de forma univariada.

En la primera situación, se utiliza el promedio aritmético de los datos registrados sobre cada variable y población a través de las repeticiones y ambientes, enmascarándose los efectos del ambiente y la interacción. Esta técnica es muy rudimentaria desde el punto de vista estadístico pero, dado que es una metodología muy sencilla y simple de aplicar, la misma es ampliamente utilizada. Brandolini y Brandolini (2001) clasificaron 562 poblaciones italianas de maíz aplicando análisis multivariado al promedio de los datos obtenidos para cada variable y población. Lo mismo realizaron Gouesnard *et al.* (1997) al agrupar 262 poblaciones francesas en diferentes localidades, Ilarslan *et al.* (2002) para evaluar 32 poblaciones originarias de Turquía y Bige y Lorenzoni (2007) para clasificar 99 entradas de Angola.

En los casos en que se trata esta problemática de forma univariada, se recurre al planteo de un modelo lineal mixto para el Análisis de la Varianza que refleje el escenario experimental planteado y permita estimar y eliminar el efecto ensayo y ambiente con sus respectivas interacciones con las poblaciones. Es importante para la aplicación de este tipo de modelos que los diferentes ensayos cuenten con testigos comunes, los cuales actuarán como valores de referencia y sobre los que el resto de las poblaciones toman valores relativos. De este modo se logra separar la variabilidad intrínsecamente genética entre las poblaciones a evaluar de aquélla que se debe al ensayo, a los ambientes, y más aún, de la posible variabilidad debida a la interacción genotipo-ambiente, para el posterior establecimiento de relaciones puramente genéticas. Este procedimiento debe repetirse para cada variable bajo estudio, lo cual resulta enormemente laborioso al tratarse de un modelo totalmente desbalanceado con celdas vacías y por otro lado no permite estudiar las interrelaciones entre los caracteres, además de limitarse al uso de variables cuantitativas. Taba *et al.* (1998) utilizando un modelo lineal mixto, lograron agrupar 498 poblaciones locales de maíz originarias del Caribe las cuales fueron evaluadas en dos ensayos, cada uno de los cuales contenía 249 poblaciones. Cada ensayo fue estudiado en cuatro ambientes diferentes, cada uno de los cuales surgió de la combinación localidad-año. Los autores

utilizaron siete testigos comunes a ambos ensayos los cuales comprendían dos híbridos comerciales, tres variedades experimentales y dos poblaciones locales. Con las medias ajustadas provenientes de ambos ensayos, lograron conformar 12 clusters diferenciables por sus características morfológicas y agronómicas. Chapman y De la Vega *et al.* (2002) utilizaron este tipo de modelo para evaluar durante ocho años el rendimiento de girasol en Argentina. En cada año de evaluación, tanto las localidades como el número de materiales y los híbridos evaluados son diferentes y utilizaron dos híbridos comerciales como testigos comunes a todos los ensayos. Defacio (2009) aplicó el modelo mixto para evaluar en forma conjunta cuatro ensayos de poblaciones locales de maíz colectados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Cada uno de estos ensayos estaba constituido por un grupo distinto de poblaciones y se llevaron a cabo en diferentes ambientes, estando todos los ensayos conectados por cuatro poblaciones de polinización abierta. Aplicando el modelo mencionado, se formaron cinco grupos a partir de variables cuantitativas morfológicas, fenológicas y agronómicas.

Otra alternativa univariada para tratamiento de la interacción genotipo-ambiente es el uso de modelos AMMI (Efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos). Este análisis combina las técnicas de Análisis de la variancia (ANOVA) con el ACP en un solo modelo. El ANOVA permite estudiar los efectos de los factores detectando la presencia de interacción genotipo-ambiente y el ACP permite estudiar la interacción de los mismos (Álvarez y Ruiz de la Galarreta, 1999). Estos modelos se representan en un biplot que ayudan a identificar las combinaciones de niveles causantes de la interacción (Varela *et al.*, 2008). Si bien este modelo es muy importante en el estudio de la interacción genotipo-ambiente, por tratarse de una técnica univariada (permite el estudio de una variable por vez) no posibilita el estudio conjunto de todas las variables involucradas (Marticorena, tesis de maestría en elaboración). Álvarez y Ruiz de la Galarreta (1999) determinaron mediante modelos AMMI la magnitud de la interacción genotipo-ambiente sobre el rendimiento de grano de 12 poblaciones locales de maíz en diferentes ambientes del norte de España. En base a sus resultados pudieron recomendar el uso de cada una de las poblaciones evaluadas para ambientes agroecológicos específicos. Vázquez Carrillo *et al.* (2012) utilizan este modelo para evaluar la interacción genotipo-ambiente y la estabilidad de rendimiento y calidad de grano en 20 híbridos comerciales de maíz en México. Aplicando un modelo AMMI, Workie *et al.* (2013) determinaron la estabilidad de 15 genotipos de maíz en el norte de Etiopía, indicando cuales se adaptaban a localidades específicas.

Las metodologías descriptas condensan la información de un gran número de variables evaluadas sobre un grupo de poblaciones en ensayos multi-ambientales. Por un lado, si se utiliza una matriz población x atributo no están incluidos explícitamente los ambientes de medición. Otra posibilidad es utilizar una matriz población x atributo por cada sitio, lo cual no facilita la interpretación a través de los ambientes. Los análisis de tres modos incluyen toda la información disponible (variables) para cada población y en cada ambiente de evaluación (Franco *et al.*, 1999) con lo cual ningún modo desaparece del análisis (De la Vega y Chapman, 2001). El hecho de que ninguna de las variables sea excluida del análisis, es la principal ventaja de la técnica de tres vías (Franco *et al.*, 1999).

Debido a lo mencionado, cuando las observaciones de las variables han sido hechas bajo distintas situaciones o momentos en el tiempo, es decir, en distintas condiciones, se tiene para cada situación o momento una tabla de datos de *dos vías*, por consiguiente la información se puede representar mediante una única *matriz de tres modos* de orden " $n \times p \times q$ ", donde cada elemento representa la observación originada por tres modos: individuos (n), variables (p) y condiciones (q).

El análisis de datos a tres modos podría constituir una útil herramienta que permita un mejor aprovechamiento de la información disponible pudiendo afrontarse las siguientes situaciones que se presentan al evaluar poblaciones locales de un banco de germoplasma:

- i) En el estudio de descriptores fenotípicos, morfológicos y agronómicos sobre los que es factible la influencia de factores ambientales que obliga que el registro de caracteres deba repetirse en el tiempo y en distintos ambientes.
- ii) En la unificación en un solo análisis de los resultados proveniente de diferentes ensayos de caracterización en que se divide el material de un banco de germoplasma para que sea manejable experimentalmente.
- iii) En el tratamiento simultáneo de datos de distinta naturaleza, como por ejemplo caracteres de tipo cuantitativo y cualitativo.
- iv) Al momento de querer establecer relaciones entre la caracterización del material vegetal y el lugar geográfico y/o ecológico-ambiental del que provienen.

Específicamente para el manejo de Recursos Genéticos, estas técnicas pueden ser usadas para estudiar la diversidad fenotípica y genotípica formando grupos homogéneos, para asignar a las poblaciones a un estrato específico (región eco-geográfica, lugar de colecta, etc.), para formar una colección núcleo y para identificar germoplasma potencialmente útil por caracteres agronómicos generales y específicos (Franco *et al.*, 1999). Este tipo de metodologías, que permiten comprender la

naturaleza de la interacción genotipo-ambiente, son totalmente necesarias para usar eficientemente y en forma apropiada las diferentes estrategias de mejoramiento (de la Vega *et al.*, 2002) ya que la interacción genotipo-ambiente refleja diferencias en la adaptación, la cual puede ser explotada por selección y/ o para ajustar las estrategias de evaluación (Kroonenberg y Basford, 1989). Además, cuando nos referimos a poblaciones locales, la interacción genotipo-ambiente es considerado un factor que podría contribuir a mantener la variación genética, especialmente si la base genética de esta interacción se explica porque las alternativas alélicas de un locus son favorecidas en diferentes condiciones ambientales (Ungerer *et al.*, 2003). Pratta *et al.* (2011) plantean que esta interacción podría estar causada principalmente por la expresión de genes distintos de acuerdo a las condiciones ambientales en las que crezca el cultivo. Panthee *et al.* (2012) sostienen que los factores ambientales pueden jugar un rol en la regulación de los genes, lo cual puede afectar la expresión de los mismos controlando los caracteres de interés que en última instancia resultan en diferencias fenotípicas entre los ambientes. En cualquiera de los tres efectos propuestos (favorecimiento de uno u otro alelo dentro de locus, expresión de diferentes loci que afectan al mismo carácter o diferencias en la regulación de un mismo gen por efectos ambientales), la interacción genotipo - ambiente plantea desafíos que las metodologías de tres modos pueden abordar eficazmente debido al análisis simultáneo de un gran número de datos y condiciones que pueden realizar sin pérdida de información. A pesar de las ventajas que implica utilizar metodologías de tres modos, las mismas no son regularmente utilizadas por los fitomejoradores.

Los datos de tres modos pueden clasificarse como datos de tres vías y datos de Conjuntos Múltiples. En el primer caso se evalúan un único grupo de individuos, un único grupo de variables y un único grupo de condiciones o ambientes y los modos se encuentran totalmente cruzados. A diferencia del anterior, los datos de Conjuntos Múltiples son aquéllos en que el primer o segundo modo está compuesto por más de un grupo de individuos o variables, pudiendo obtener:

- Varios grupos de individuos, un único grupo de variables y un único grupo de condiciones.
- Varios grupos de variables, un único grupo de individuos y un único grupo de condiciones (Marticorena, tesis de maestría en elaboración).

Cuatro metodologías de análisis de tres modos alternativas mejor conocidas y más empleadas en la caracterización de recursos genéticos son las técnicas de Análisis Factorial Múltiple (AFM), Análisis de Proctustes Generalizados (APG), de cluster y ACP a tres vías.

El AFM permite trabajar en forma conjunta con varias tablas de dos modos y su objetivo es la búsqueda de una estructura común o representativa de todas las tablas. Para ello, las tablas de datos deben contener un mismo grupo de individuos descriptos a través de varios grupos de variables. Este análisis, cuando las variables son cuantitativas, se basa en la metodología del ACP y consta de dos etapas. En la primera se realiza un ACP de cada tabla por separado determinando los valores propios de cada una. En la segunda etapa se realiza un ACP de la tabla que resulta de yuxtaponer horizontalmente las diferentes tablas. En este análisis cada tabla es ponderada por el inverso del primer valor propio obtenido en el ACP, lo cual equilibra la influencia de los grupos (Zuliani *et al.*, 2012).

El APG comprende sucesivos pasos y transformaciones de los datos bajo dos criterios: que se mantengan las distancias de las configuraciones individuales asociadas a cada grupo de variables y se minimice la suma de cuadrados correspondientes al mismo elemento y su centroide. Con esta técnica se obtiene la posibilidad de utilizar las medidas de distancia más adecuadas para cada conjunto de variables, sin generar ningún tipo de pérdida de información por transformaciones o adecuaciones de las variables (Bramardi, 2000). La misma permite balancear el peso de cada grupo de variables y mejorar la correlación de aquellos conformados por una menor cantidad de variables (Reeb *et al.*, 2003).

En el análisis de cluster a tres modos los agrupamientos se constituyen de forma tal que dentro de cada grupo, los genotipos tienen un patrón de respuesta similar para cada atributo o variable evaluada a través de los ambientes (Basford *et al.*, 1990).

El objetivo básico del ACP de tres vías es representar cada uno de los modos (genotipo, ambiente y atributo) tan bien como sea posible en un espacio menor de dimensiones, formando una combinación lineal de los niveles de los modos (Basford *et al.*, 1990). El modelo describe la relación entre unidades no únicamente dentro de los modos sino también entre los modos (Chapman *et al.*, 1997). La representación gráfica de este tipo de análisis es similar a los biplots utilizados en los métodos de dos vías.

La principal diferencia entre el cluster y el ACP a tres modos es que el primero puede describir muy eficientemente las características de grupos de genotipos pero puede hacerse únicamente en un modo. En oposición a esto, el ACP genera un agrupamiento que no es tan claro pero brinda una representación espacial de cada modo y de la combinación de los modos (Basford *et al.*, 1990).

La técnica de AFM es muy utilizada para los estudios de datos sensoriales, de ecología, de evaluación, económicos y sociológicos (Abdi y Valentin, 2007), no siendo

tan aplicada para análisis de datos agronómicos. Mediante la técnica de AFM, Zuliani *et al.* (2012), evaluaron 31 poblaciones nativas de maíz de Argentina determinando el comportamiento de las mismas en cada uno de los ambientes en estudio. Vitelleschi y Chavasa (2015), caracterizaron 21 variedades de trigo pan mediante esta metodología permitiendo identificar que variables resultaron más sensibles a los cambios ambientales y que variedades estaban más afectadas por los ambientes en los cuales se estudiaron. Del Médico (2016), evaluó mediante AFM 18 familias de tomate conformando cuatro grupos y determinando que variables presentan mayor o menor heredabilidad.

El APG es una técnica muy utilizada para realizar el análisis conjunto de datos agro-morfológicos y moleculares. Bramardi *et al.* (2005), agruparon 41 cultivares de pepino mediante esta metodología para tratar en forma conjunta datos agronómicos, cualitativos y cuantitativos, y moleculares. Lopes *et al.* (2006), evaluaron 37 aislamientos nativos de levadura para la fermentación de uva por caracteres fisiológicos y moleculares. Los autores obtuvieron mediante el APG la configuración consenso que les permitió visualizar la diversidad genérica registrada. Defacio (2009), utilizó esta metodología para evaluar en forma conjunta los datos cualitativos y cuantitativos registrados en 145 poblaciones nativas de maíz originarias de la provincia de Buenos Aires.

Utilizando el análisis de cluster de tres modos, Crossa *et al.* (1995) clasificaron 156 poblaciones locales de maíz de la raza Cónico evaluadas en tres ambientes y 175 poblaciones de la raza Tuxpeño estudiadas en dos ambientes. Chapman *et al.* (1997b), con la misma metodología, agruparon 15 poblaciones locales de maíz que fueron evaluadas en diez ambientes diferentes, cinco de los cuales se encontraban con buena disponibilidad de agua y cinco con condiciones de sequía.

Mediante ACP a tres vías, Rincon *et al.* (1997) evaluaron 184 poblaciones caribeñas conservadas en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en cuatro ambientes, identificando un set de poblaciones con potencial uso para su introgresión en el material elite. Ortiz *et al.* (2008) clasificaron 50 poblaciones peruanas en dos ambientes logrando formar grupos más separados y bien definidos que con la clasificación racial. Con este mismo análisis, Marticorena *et al.* (2010) evaluaron 31 poblaciones locales de maíz de Argentina en dos ambientes, pudiendo determinar grupos de poblaciones de comportamiento homogéneo en ambos ambientes y otros donde se manifestaron la incidencia de las condiciones ambientales, lo cual es indicativo de la existencia de interacción genotipo - ambiente.

Más recientemente, Lavallo (2016) planteó el uso del Análisis de Procrustes Generalizado (APG) para el tratamiento de datos provenientes de ensayos

incompletos conectados por individuos comunes. El APG fue desarrollado por Gower en 1975 y comprende un proceso iterativo de traslación, rotación y escalado donde se mantiene la distancia relativa entre las poblaciones de las configuraciones individuales entre puntos análogos, es decir, puntos que corresponden a la misma población bajo configuraciones diferentes. Con esta técnica, se obtiene la posibilidad de utilizar las medidas de distancia más adecuadas para cada conjunto de variables sin generar ningún tipo de pérdida de información por transformaciones o adecuaciones de las variables (Bramardi, 2000). En la propuesta realizada por Lavalle (2016), se presenta una alternativa para utilizar el APG en la cual hay un grupo de poblaciones que son utilizadas como testigos y se miden en todos los ensayos mientras que el resto de las poblaciones son medidas sólo en un ensayo. La metodología propuesta utiliza la información de las poblaciones testigo para realizar el centrado y hallar las sucesivas matrices de rotación y factores de escala. Las poblaciones evaluadas en cada ensayo son centradas, escaladas y rotadas de manera de conservar sus posiciones relativas dentro de cada matriz.

Debido a que esta técnica ha sido recientemente desarrollada, no existen datos experimentales que la utilicen siendo el presente trabajo el primero en aplicarla.

Es posible concluir, entonces, que existen diferentes alternativas para el tratamiento del ambiente y sus interacciones. Sus efectos pueden ignorarse utilizando el promedio aritmético, evitarse aplicando análisis de datos univariados donde las mismas son estimadas y eliminadas, o explotarla mediante el uso de análisis de tres vías. Cada una de estas alternativas presenta sus ventajas y desventajas y resultaría adecuado compararlas para definir cuál de ellas es la que permite la mejor caracterización y ordenamiento de la variabilidad genética existente en un Banco de Germoplasma.

Por otro lado, las clasificaciones más utilizadas en los Bancos de Germoplasma a nivel mundial, es la clasificación racial. Esta utiliza variables de tipo cualitativa y generalmente relacionadas con atributos de la mazorca y el grano (Gutiérrez *et al.*, 2003; Ortiz *et al.*, 2008). Comparando la clasificación racial con la numérica en poblaciones locales de maíz uruguayas, Gutiérrez *et al.* (2003) concluyeron que la clasificación numérica forma grupos más parsimoniosos y cohesivos que la clasificación racial aunque la primera posee la desventaja de utilizar caracteres que están muy influenciados por el ambiente. Además, los autores agregan que la clasificación numérica puede considerarse como un análisis más refinado y detallado de la relación entre poblaciones locales de maíz, ya que permite crear grupos más homogéneos utilizando caracteres muy importantes para su uso en el mejoramiento genético. Ortiz *et al.* (2008), evaluando poblaciones peruanas, indicaron que si bien la

estructura principal de las razas más diferenciadas se mantiene, la taxonomía numérica forma grupos más separados, compactos y bien definidos reclasificando partes de las razas en nuevos grupos.

Cada tipo de variables (cuantitativas y cualitativas) aporta información respecto a sistemas genéticos diferentes, lo cual no indica necesariamente que una prevalezca en importancia sobre la otra sino que, por el contrario, es frecuentemente el experimentador quién fuerza a que alguna prevalencia ocurra, según el método de análisis empleado. Bramardi *et al.* (2005) evaluaron la relación entre las matrices de distancia de datos cualitativos, cuantitativos y moleculares registrados en 41 variedades de pepino (*Cucumis sativus* L.). Los autores encontraron correlaciones relativamente bajas pero significativas entre las matrices de distancia de cada tipo de datos. Al evaluar aislamientos nativos de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizada en la fermentación de vinos por características fisiológicas (datos cuantitativos) y por marcadores moleculares (datos cualitativos), Lopes *et al.* (2006) encontraron una correlación muy baja entre ambos tipos de variables. Otros autores, como Bermejo *et al.* (2010), hallaron una correlación elevada ($r = 0,75$) entre las matrices de similaridad y distancia de datos moleculares y morfológicos respectivamente al evaluar 29 genotipos de lenteja (*Lens culinaris* M.). Por lo mencionado, es conveniente utilizar alguna metodología que permita analizar la información aportada por datos cuantitativos y cualitativos en forma conjunta. Para ello, una propuesta que lo permite sin generar pérdida de información es, también, el APG. Utilizando esta metodología, Defacio (2009) agrupó 145 poblaciones locales de maíz originarias de la Provincia de Buenos Aires analizando en forma conjunta datos agronómicos y morfológicos cuantitativos y cualitativos. Mahuad *et al.* (2013) analizaron 18 genotipos de tomate mediante caracteres fenotípicos evaluados en los frutos y marcadores moleculares. Los autores consideraron importante realizar el análisis conjunto de ambos tipos de datos para detectar posibles QTLs (*loci* de caracteres cuantitativos) involucrados en la determinación de la calidad del producto comercializado, concluyendo que la metodología de APG es muy satisfactoria para identificar asociaciones entre la variabilidad encontrada en las caracterizaciones fenotípica y genotípica. Grandón *et al.* (2013) también concluyeron que la caracterización agronómica y la molecular permiten evaluar la diversidad genética de genotipos de alfalfa (*Medicago sativa* L.) y utilizan la técnica del APG para analizar conjuntamente ambos tipos de caracteres (marcadores moleculares y fenotipos cuantitativos asociados a la productividad del cultivo).

Por último, y considerando que las poblaciones conservadas corresponden a distintos orígenes geográficos de gran parte del país, resulta interesante corroborar si

la variación genética encontrada tiene alguna relación con dicho origen. Para ello puede utilizarse el test de Mantel, que evalúa la significancia de la relación entre dos matrices de disimilitud, en este caso entre las matrices de distancia genética y la de distancia geográfica. Esta última es medida como la distancia lineal entre el lugar de origen o colecta de las poblaciones. Esta metodología es muy utilizada en la rama de la ecología. Toledo-Hernández *et al.* (2014) evaluando la distribución del pez león (*Pterois spp.*) en 24 sitios cercanos a Puerto Rico no encontraron relación entre el análisis molecular y la distribución geográfica, determinando además que la variación genética encontrada dentro de cada sitio era mayor que entre sitios. Examinando los datos genéticos de lobos en la costa oeste canadiense, Stronen *et al.* (2014) no encontraron relación con la distancia geográfica entre las distintas islas. Los autores plantean que además de la distancia geográfica hay múltiples factores interactuando, como cercanía al agua, rugosidad del terreno, etc., que pueden afectar la estructura genética del área en estudio.

En el caso de poblaciones locales de maíz, la relación entre el origen geográfico y la divergencia genética varía según las poblaciones evaluadas, las variables consideradas y las regiones de estudio. Alike *et al.* (1993) al evaluar 30 entradas nigerianas concluyeron que se revela una separación de color de grano y tipo de endosperma según la zona ecológica de la cual provenían las poblaciones y las rutas de comercio tradicionales, lo que se refleja fundamentalmente en los hábitos culinarios de las diferentes culturas en algunas regiones. Un similar agrupamiento de las poblaciones originarias de áreas geográficas parecidas hallaron Gouesnard *et al.* (1997) al clasificar 262 poblaciones francesas. Vigoroux *et al.* (2008) sostienen que existe una fuerte componente geográfica en la organización de la diversidad genética a escala continental al evaluar poblaciones locales de maíz del continente americano. Ágeles-Gaspar *et al.* (2010) determinaron que los agrupamientos entre las poblaciones están influenciados por el gradiente altitudinal en la región de Puebla, México, y Presello *et al.* (1996) al evaluar poblaciones locales argentinas de maíz conservadas en el BAP, encontraron una importante relación entre el origen geográfico y resistencia al Virus del Mal de Río Cuarto.

Por otro lado, Melchiorre *et al.* (2002) no hallaron ninguna correlación entre la distancia genética entre las poblaciones y la altitud de la localidad de origen en poblaciones colectadas en la provincia de Salta, Argentina. Lucchin *et al.* (2003) y Defacio (2009) estudiaron maíces flint italianos y poblaciones locales de Argentina, respectivamente, y también determinaron bajas correlaciones entre las distancias genéticas entre las poblaciones y geográficas del lugar de origen de las mismas. Al evaluar poblaciones locales argentinas por su comportamiento a fusariosis de la

espiga, Presello *et al.* (2006) no hallaron relación entre la respuesta frente a la enfermedad y el origen geográfico de las poblaciones.

En el presente trabajo se plantea como hipótesis que la caracterización y el ordenamiento de la variabilidad genética existente en poblaciones locales de maíz conservadas en un Banco de Germoplasma pueden ser obtenidos más eficientemente a través de métodos multivariados de tres modos en comparación con las estrategias del análisis tradicional como Análisis de Componentes Principales sobre el promedio aritmético o la eliminación de los efectos ambiente y sus interacciones mediante el uso de un modelo lineal mixto.

CAPÍTULO II- OBJETIVOS

II-1. Objetivo general

Estudiar y evaluar comparativamente si los métodos de análisis multivariado a tres modos permiten un mayor y mejor aprovechamiento de la información proveniente de la caracterización de poblaciones locales de maíz, respecto a las estrategias de análisis tradicional de componentes principales sobre promedio aritmético o eliminación de efecto ambiente y sus interacciones a través de modelo lineal mixto.

II-2. Objetivos específicos

Comprobar la adecuación de nuevos procedimientos estadísticos, dentro del entorno de los métodos multivariados a tres vías, para el tratamiento de bases de datos incompletas o desbalanceadas.

Ordenar y clasificar a las poblaciones evaluadas en base a su similitud utilizando técnicas de Análisis Multivariado.

Determinar la relación entre el agrupamiento obtenido y el origen geográfico de las entradas.

Para cumplir con la diversidad y complejidad de los objetivos planificados, se definió dividir el trabajo de tesis en siete capítulos, desarrollándose los cinco restantes a continuación:

- Capítulo III: se presenta el material vegetal utilizado en el trabajo de tesis, detallando ensayos y diseños experimentales realizados, unidad experimental y variables evaluadas.
- Capítulo IV: se plantean en forma comparativa diferentes alternativas para el tratamiento de variables influenciadas por el ambiente. Las metodologías aplicadas consisten en la aplicación de Modelos AMMI y AFM.

- Capítulo V: se desarrollarán diferentes metodologías (Promedio aritmético, Modelos lineales mixtos y APG a tres vías) las cuales se evaluarán comparativamente, determinando la más adecuada para integrar la información proveniente de diferentes ensayos de evaluación. Se desarrollará en profundidad en este capítulo la metodología del APG a tres vías para ensayos Incompletos conectados.

- Capítulo VI: se aplicará la técnica seleccionada en el capítulo anterior al total de poblaciones evaluadas en el BAP. Además, las mismas poblaciones se analizarán por sus características cualitativas mediante ACooP. Ambos tipos de variables se evaluarán en forma conjunta aplicando un APG. Por último se determinará la significancia de la relación entre las matrices de distancia genética y geográfica.

- Capítulo VII: se presentarán las conclusiones obtenidas en el presente trabajo.

CAPÍTULO III- MATERIALES Y MÉTODOS

III-1. Material vegetal

Se evaluaron 510 poblaciones locales de maíz colectadas en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, La Pampa, Corrientes, Entre Ríos y Misiones entre las décadas de 1950 y 1980. Las mismas se encuentran conservadas en el BAP de la EEA-INTA. Los datos de pasaporte (latitud, longitud y altitud) y la forma racial de las poblaciones evaluadas se muestran en el Anexo I.

Como testigos se utilizaron cuatro poblaciones de polinización abierta: Candelaria INTA, Payagua INTA, SP1234 y BS13P. Candelaria INTA y Payagua INTA se caracterizan por presentar endosperma semidentado en tanto que SP1234 presenta endosperma córneo o *flint*, estas tres variedades fueron desarrolladas por el grupo de mejoramiento de maíz de la EEA INTA Pergamino. BS13P presenta endosperma dentado y es germoplasma de origen estadounidense.

Las entradas fueron agrupadas en 13 ensayos de acuerdo con la similitud racial, estructura de la planta y ciclo (Castillo González y Goodman, 1989; Gouesnard *et al.*, 1997; Taba *et al.*, 1998 y Salhuana *et al.*, 1998) para evitar que las diferencias fenológicas y morfológicas entre las poblaciones afecten las evaluaciones. Los ensayos se detallan a continuación:

Ensayo 1: 60 poblaciones de la raza Cristalino Colorado colectados en la Provincia de Buenos Aires.

Ensayo 2: 45 poblaciones de las razas Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Pericarpio Rojo, Calchaquí, Dentado Amarillo y grupo No Clasificable colectados en la Provincia de Buenos Aires.

Ensayo 3: 32 poblaciones de las razas Amarillo Ocho Hileras, Blanco Ocho Hileras y Dentado Blanco colectados en la Provincia de Buenos Aires.

Ensayo 4: 8 poblaciones de las razas Pisingallo y Dulce colectados en la Provincia de Buenos Aires.

Ensayo 5: 26 poblaciones de las razas Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Cristalino Blanco, Dentado Amarillo y Dentado Blanco colectados en la Provincia de Santa Fe.

Ensayo 6: 46 poblaciones de la raza Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Cristalino Blanco, Pericarpio Rojo, Calchaquí y grupo No Clasificable colectados en la Provincia de Córdoba.

Ensayo 7: 50 poblaciones de las razas Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Dentado Blanco, Dentado Amarillo, Avatí Morotí Ti y grupo No Clasificable colectados en las Provincias de Córdoba y La Pampa.

Ensayo 8: 39 poblaciones de las razas Pisingallo, Dulce, Amarillo Ocho Hileras y Blanco Ocho Hileras colectados en las Provincias de Córdoba y La Pampa.

Ensayo 9: 43 poblaciones de las razas Avatí Morotí, Avatí Morotí Ti, Avatí Morotí Mita, Calchaquí, Tusón y grupo No Clasificable colectados en las Provincias de Entre Ríos y Corrientes.

Ensayo 10: 52 poblaciones de las razas Dentado Amarillo, Dentado Blanco, Complejo Tropical, Canario de Formosa y Venezolano colectados en las Provincias de Entre Ríos y Corrientes.

Ensayo 11: 30 poblaciones de las razas Perlita, Perla, Pisingallo y Avatí Pichinga colectados en las Provincias de Corrientes y Misiones.

Ensayo 12: 60 poblaciones de las razas Dentado Amarillo, Camelia, Cravo, Tusón, Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Dentado Blanco, Complejo Tropical, Venezolano, Amargo y grupo No Clasificable colectados en las Provincias de Entre Ríos, Corrientes y Misiones.

Ensayo 13: 18 poblaciones de las razas Avatí Morotí, Avatí Morotí Ti y Avatí Morotí Mita colectados en la Provincia de Misiones.

El grupo No Clasificable se identifica de esta manera por no presentar características definidas de ninguna raza, sino que se compone de una mezcla de las mismas.

En los ensayos en que se evaluaron poblaciones pertenecientes a las razas Dulce y Pisingallo se incluyeron dos poblaciones sintéticas mejoradas de las formas raciales mencionadas, PoraINTA y Abasto Blanco. PoraINTA es de endosperma totalmente corneo y reventador y fue desarrollado por el grupo de mejoramiento de maíz de la EEA INTA Pergamino. Abasto Blanco fue desarrollado por el Grupo de Mejoramiento de Maíz de la EEA INTA San Pedro y presenta endosperma dextrinoso.

Cada ensayo fue evaluado en dos ambientes el cual surge de la combinación localidad x año (Holland y Goodman, 1995; Rincón *et al.*, 1997; Wolf *et al.*, 2000; de la Vega *et al.*, 2002) como se muestra en la tabla 1. Las localidades de evaluación fueron Pergamino (EEA INTA) y Ferré (Escuela Agrotécnica Salesiana) y las experiencias se realizaron desde la campaña 2003/04 hasta 2009/10.

Tabla 1: Ambientes de evaluación que surgen de la combinación localidad x año.

Año/ Localidad	Pergamino	Ferré
03-04	I	II
04-05		III
05-06	IV	V
06-07	VI	VII
07-08	VIII	IX
08-09		X
09-10	XI	

En la tabla 2 se presentan la distribución de los ensayos en los distintos ambientes de evaluación.

Tabla 2. Distribución de los ensayos en los distintos ambientes de evaluación.

	Amb I Perg 03/04	Amb II Ferré 03/04	Amb III Ferré 04/05	Amb IV Perg 05/06	Amb V Ferré 05/06	Amb VI Perg 06/07	Amb VII Ferré 06/07	Amb VIII Perg 07/08	Amb IX Ferré 07/08	Amb X Ferré 08/09	Amb XI Perg 09/10
Ensayo 1	X	X									
Ensayo 2			X	X							
Ensayo 3			X	X							
Ensayo 4			X	X							
Ensayo 5				X	X						
Ensayo 6					X			X			
Ensayo 7						X	X				
Ensayo 8						X	X				
Ensayo 9								X	X		
Ensayo 10								X	X		
Ensayo 11										X	X
Ensayo 12										X	X
Ensayo 13										X	X

III-2. Ensayo de referencia

Durante la campaña 2010/11 se sembró a campo un ensayo comparativo de 132 poblaciones locales de maíz. Las mismas pertenecen a 13 formas raciales (Cristalino Colorado, Cristalino Amarillo, Dentado Blanco, Dentado Amarillo, Amarillo Ocho Hileras, Blanco Ocho Hileras, Calchaquí, Pisingallo, Dulce, Avatí Morotí, Avatí Morotí Ti, Avatí Morotí Mitá, Tusón) y un grupo No Clasificable formados por poblaciones que fueron colectadas en las Provincias de Buenos Aires, Córdoba, La Pampa, Entre Ríos y Corrientes. Además, se incluyeron las poblaciones sintéticas mejoradas PoraINTA y Abasto Blanco que estaban presentes en los ensayos realizados previamente con las razas Dulce y Pisingallo. Como testigos se utilizaron las cuatro variedades de polinización abierta descriptas anteriormente: SP1234, Payagua INTA, Candelaria INTA y BS13P.

Las poblaciones utilizadas, se corresponden a las de los ensayos 3, 4, 7 y 9 descriptos en el apartado III-1. Estos cuatro ensayos fueron seleccionados del total de ensayos realizados por el BAP por contener poblaciones de distintas formas raciales y ser originarias de distintas provincias cuyas condiciones agro-climáticas permiten la adaptación de los materiales a los ambientes de evaluación. Estos cuatro ensayos se vuelven a realizar en uno solo para poder utilizarlo como fuente de comparación, ya que en este último no existe la problemática del concatenamiento de poblaciones caracterizadas en condiciones diferentes, por ello, de ahora en más será denominado ensayo de 'referencia'.

El ensayo de referencia se realizó en dos ambientes de evaluación, Pergamino (EEA INTA) y Ferré (Escuela Agrotécnica Salesiana). En cada ambiente se utilizó un diseño en bloques con dos repeticiones. En todos los casos (ensayos 1 a 13 y ensayo de referencia) la Unidad Experimental consistió en dos surcos de 5 m de longitud separados 0,7 m entre sí.

La fertilización se realizó según los requerimientos de cada lote el cual se determinó de los análisis de suelos realizados previamente. La cama de siembra se preparó utilizando un sistema de labranza reducida y la siembra se realizó en forma manual con una densidad de 5 plantas/m lineal de surco. Se realizaron, de ser necesarios, el control de malezas y de insectos con agroquímicos específicos para cada caso siguiendo las recomendaciones estándares para las zonas agroecológicas en que se implantaron los ensayos. La cosecha se realizó en forma manual.

III-3. Variables evaluadas

Se registraron 20 variables, 4 cualitativas y 16 cuantitativas. Las mismas corresponden a caracteres o atributos morfológicos, fenológicos y agronómicos y fueron medidas de acuerdo a la lista de descriptores del IPGRI (International for Plant Genetic Resource Institute) (CIMMYT/IBPGR, 1991) actualmente denominado Bioversity International. Estas variables se seleccionaron del total, por ser aquellas que presentan valor para su uso ya sea en la clasificación racial o en el fitomejoramiento.

Las variables cualitativas (raza, textura de grano, color de grano y forma de la mazorca) fueron evaluadas sobre la totalidad de las mazorcas cosechadas.

Para realizar las evaluaciones, las variables cualitativas multiestado se codificaron para este trabajo como se menciona a continuación:

Raza: 1: Grupo No clasificable; 2: Cristalino Colorado; 3: Cristalino Amarillo; 4: Cristalino Blanco; 5: Dentado Amarillo; 6: Dentado Blanco; 7: Dulce; 8: Pisingallo; 9: Amarillo Ocho Hileras; 10: Blanco Ocho Hileras; 11: Pericarpio Rojo; 12: Calchaquí; 13: Avatí Morotí; 14: Avatí Morotí Mita; 15: Avatí Morotí Ti; 16: Avatí Pichinga; 17: Perla; 18: Perlita; 19: Camelia; 20: Cravo; 21: Amargo; 22: Tusón; 23: Canario de Formosa; 24: Complejo Tropical; 25: Venezolano

Textura: 1: Cristalina; 2: Dentada; 3: Dulce; 4: Reventadora; 5: Harinosa; 6: Semidentada

Color de grano: 1: Colorado; 2: Amarillo; 3: Blanco; 4: Rojo

Forma de la mazorca: 1: Cilíndrica; 2: Cilíndrica – Cónica; 3: Cónica

Las variables cuantitativas registradas fueron Grados días a floración masculina (GDUM), Grados días a floración femenina (GDUF), Sincronía entre floración masculina y femenina (ASI), Altura de planta (ALTPL), Altura de inserción de mazorca (ALTMZ), Porcentaje de plantas quebradas (PORQ), Porcentaje de plantas volcadas (PORV), Longitud de mazorca (LMZ), Diámetro de mazorca (DMZ), Número de hileras de la mazorca (NHIL), Granos por hilera de la mazorca (GRHIL), Ancho de grano (AGR), Largo de grano (LGR), Peso de 1.000 semillas (P1000), Rendimiento (REND) y Prolificidad (PROL).

Los días a floración masculina y femenina se registraron cuando el 50% de las plantas de la parcela se encontraban liberando polen o presentaban estigmas visibles, respectivamente. La sincronía entre ambas floraciones surgió de la diferencia entre las floraciones femeninas y masculinas. Para estas tres variables, los días fueron transformados a tiempo térmico (Unidad de Grados Días) a través de la siguiente fórmula propuesta por Andrade *et al.* (1996).

$$GDU = \sum_{i=1}^n (Tas_i - Tb)$$

Dónde: Tas = Temperatura media del aire

Tb = Temperatura base, para el caso de maíz en la zona donde se llevaron a cabo los ensayos es 8 °C

n = número de días

Las alturas de inserción de mazorca y de planta se registraron cuando la parcela se encontraba en estado de grano lechoso (R3 según Ritchie y Hanway, 1982) sobre 10 plantas tomadas al azar y en competencia completa dentro de la parcela. Para ello se midió en cm. desde la base de la planta hasta el nudo de inserción de la mazorca superior y hasta el ápice de la panoja respectivamente. Se realizaron los promedios de las 10 plantas evaluadas y ese dato es el que se utilizó para efectuar los análisis.

El porcentaje de plantas quebradas y volcadas fue tomado en la parcela completa cuando la misma alcanzó la madurez de cosecha (R8 según Ritchie y Hanway, 1982) Se contabilizaron la cantidad de plantas quebradas y volcadas y se expresaron como porcentaje respecto al total de plantas de la parcela.

Una vez cosechada la totalidad de la parcela se tomaron 10 mazorcas al azar de cada población y sobre ellas se registraron los datos de mazorca y grano. El promedio de los 10 datos de cada variable registrada es el que se utilizó al realizar los análisis.

La longitud de mazorca se midió desde la inserción con el pedúnculo hasta el extremo distal de la misma y se expresó en cm. El diámetro de la mazorca se registró en milímetros (mm) con un calibre sobre el ancho de la parte media de la espiga.

El número de hileras de la mazorca y los granos por hilera de la misma surgieron de contabilizar el número de granos sobre el diámetro y el largo de la espiga respectivamente.

El ancho y largo de grano se evaluaron en mm con un calibre tomando 10 granos al azar de la parte media de las espigas.

La prolificidad surgió de la relación entre el número total de mazorcas obtenidas a la cosecha y el número de tallos registrados expresándose como índice el cual indica el número de mazorcas por planta.

Las variables rendimiento y peso de 1.000 semillas se registraron una vez desgranada la totalidad de las mazorcas de la parcela.

Con el peso total de granos de la parcela se estimó el rendimiento utilizando la fórmula:

$$\text{REND (Kg/ha)} = [\text{Peso de grano} \times 1.428,57 \times (100 - \text{humedad})/85]$$

con la cual se corrigió a una base de humedad de 15% y se expresó en Kg/ha.

El peso de 1.000 semillas surgió de contabilizar manualmente 1.000 semillas tomadas al azar del total cosechado y pesarlas con una balanza electrónica. Esta variable se expresó en gramos (g).

CAPÍTULO IV - ESTRATEGIAS DE ANÁLISIS PARA EL ESTUDIO DE CARACTERES INFLUENCIABLES POR EL AMBIENTE

IV-1. MATERIALES Y MÉTODOS

IV-1.1. Material vegetal

En el presente capítulo se utilizarán los datos del ensayo de referencia descrito en el capítulo III, Materiales y métodos, específicamente en el apartado III-2., Ensayo de referencia.

Los datos registrados en cada ambiente de evaluación se organizarán en dos tablas de dos modos. Cada tabla estará integrada por filas, en las que se representarán las poblaciones o genotipos, y columnas, donde se ubicarán las 16 variables cuantitativas evaluadas.

IV-1.2. Metodología

Dado que se cuenta con dos tablas de dos modos, una para cada ambiente de evaluación, el estudio de los caracteres se realizó utilizando diferentes estrategias de análisis. Por un lado se realizó un análisis tradicional determinando el efecto del ambiente y la presencia de interacción genotipo - ambiente mediante un ANOVA para cada variable, estudiando la misma en el caso de que sea significativa o altamente significativa a través del modelo de efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos (AMMI). Como método alternativo de análisis de la interacción genotipo - ambiente a tres modos, se trató en forma conjunta toda la información para lo cual se utilizó la metodología de AFM. Cada una de las metodologías aplicadas se detalla en los puntos siguientes.

IV-1.2.1. Modelo de efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos (AMMI)

Este tipo de metodología combina las técnicas de ANOVA con la de ACP en un solo modelo, donde el ANOVA permite estudiar los efectos principales de los factores y el ACP, la interacción de los mismos la que es tratada de forma multivariada para su interpretación (Varela *et al.*, 2008).

En una primera instancia se realizó un ANOVA bifactorial considerando los factores genotipo y ambiente para cada una de las variables bajo estudio. El modelo matemático utilizado fue:

$$y_{ijkl} = \mu + P_i + A_j + P_i \times A_j + B_{k(j)} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: y_{ijkl} = Cada una de las variables de respuesta

μ = media general

P_i = efecto de población, $i = 1 \dots 145$;

A_j = efecto de ambiente, $j = 1, 2$;

$B_{k(j)}$ = efecto de bloque anidado en ambiente, $k = 1, 2$;

$P_i \times A_j$ = efecto de la interacción población por ambiente;

ε_{ijkl} = término del error

Todos los efectos fueron considerados aleatorios excepto el efecto de población que se consideró fijo.

Sobre aquellos caracteres que presentaron interacción genotipo-ambiente significativa o altamente significativa se profundizó el análisis de la interacción mediante un modelo AMMI. Los resultados se representan gráficamente para cada una de las variables analizadas. Este modelo se aplicó utilizando el software estadístico Infogen (Balzarini *et al.*, 2016).

IV-1.2.3. Análisis Factorial Múltiple (AFM)

Esta metodología permite trabajar en forma conjunta con varias tablas de dos modos y su objetivo es la búsqueda de una estructura común o representativa de todas las tablas. Como en el presente trabajo los grupos de variables están registradas sobre el mismo grupo de poblaciones, las tablas, cada una de las cuales se corresponde a un ambiente de evaluación, pueden ser concatenadas una al lado de la otra conformando una única tabla de población por variables.

Para ello se realizaron dos etapas. En la primera se realiza un ACP a cada una de las tablas donde se registran los valores propios de cada una de ellas. Esta etapa se representa esquemáticamente en la Figura 1.

Figura 1: Representación gráfica de la primer etapa del AFM

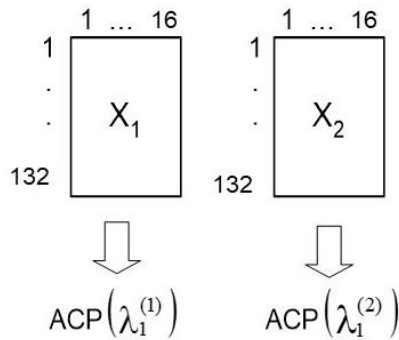


Imagen adaptada de Zuliani *et al.*, 2012

En la segunda etapa, ambas tablas son concatenadas una al lado de la otra formando una única tabla de poblaciones por variables. Para ello, cada tabla es ponderada por el inverso del primer valor propio obtenido en el ACP de dicha tabla (Figura 2).

Figura 2: Representación gráfica de la segunda etapa del AFM

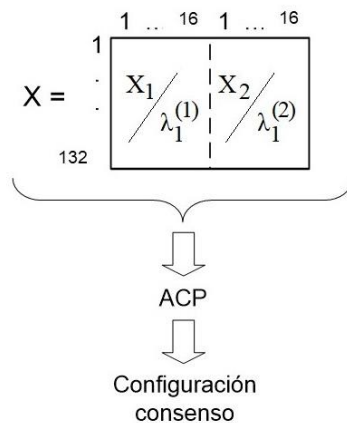


Imagen adaptada de Zuliani *et al.*, 2012

Los datos obtenidos de este análisis se representan gráficamente en un biplot. Para realizar el AFM se utilizó el paquete FactoMiner del entorno de programación y análisis de datos R (Lê y Husson ., 2008).

IV-2. RESULTADOS

IV-2.1. Modelo de efecto de interacción multiplicativo y efectos principales aditivos (AMMI)

Las significaciones para los distintos términos del modelo del ANOVA bifactorial para cada una de las variables analizadas se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Significaciones para los distintos términos del modelo del ANOVA bifactorial para cada una de las variables analizadas

Variables	Efecto		
	Población	Ambiente	GenotipoxAmbiente
LMZ	**	**	*
DMZ	**	**	NS
AGR	**	**	NS
LGR	**	**	NS
NHIL	**	**	NS
GRHIL	**	**	*
PROL	*	NS	**
P1000	**	*	NS
REND	**	**	*
ALTPL	**	NS	NS
ALTMZ	**	NS	NS
GDUM	**	**	NS
GDUF	**	**	NS
ASI	**	*	*
PORQ	**	**	*
PORV	NS	*	NS

Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas. NS: no significativo ($p > 0,05$); *: significativo ($0,01 < p < 0,05$); **: altamente significativo ($p < 0,01$).

Como se muestra en la tabla precedente, el efecto de la interacción genotipo-ambiente resultó no significativo para la mayoría de las variables excepto para los descriptores LMZ, REND, ASI, GRHIL y PORQ que mostraron diferencias significativas y PROL que presentó diferencias altamente significativas entre las combinaciones de los factores población y ambiente.

El efecto población es altamente significativo para todas las variables excepto para PORV donde resulta no significativo.

El efecto del ambiente también presentó diferencias altamente significativas para la mayoría de las variables. Las variables P1000, ASI y PORV mostraron efectos

significativos, mientras que PROL, ALTPL y ALTMZ presentaron diferencias no significativas entre ambientes.

Para profundizar el estudio de la interacción, sobre aquellas variables que tuvieron un efecto significativo o altamente significativo para la interacción genotipo-ambiente, se aplicó un modelo AMMI.

El resultado de la aplicación del modelo AMMI para la variable REND se muestra en la figura 3. Observando el gráfico se determina que las poblaciones más estables para esta variable son aquellas que se ubican en el centro del eje de coordenadas. El ambiente 1 presenta mayor interacción positiva con las poblaciones ARZM01134, ARZM04069, ARZM01133, ARZM18056 y ARZM04058, es decir estas poblaciones arrojaron rendimientos muy superiores en este ambiente que en el ambiente 2. Por el contrario las poblaciones ARZM14023, ARZM18049 y ARZM14050 fueron muy productivas en el ambiente 2 y de bajos rendimientos en el ambiente 1.

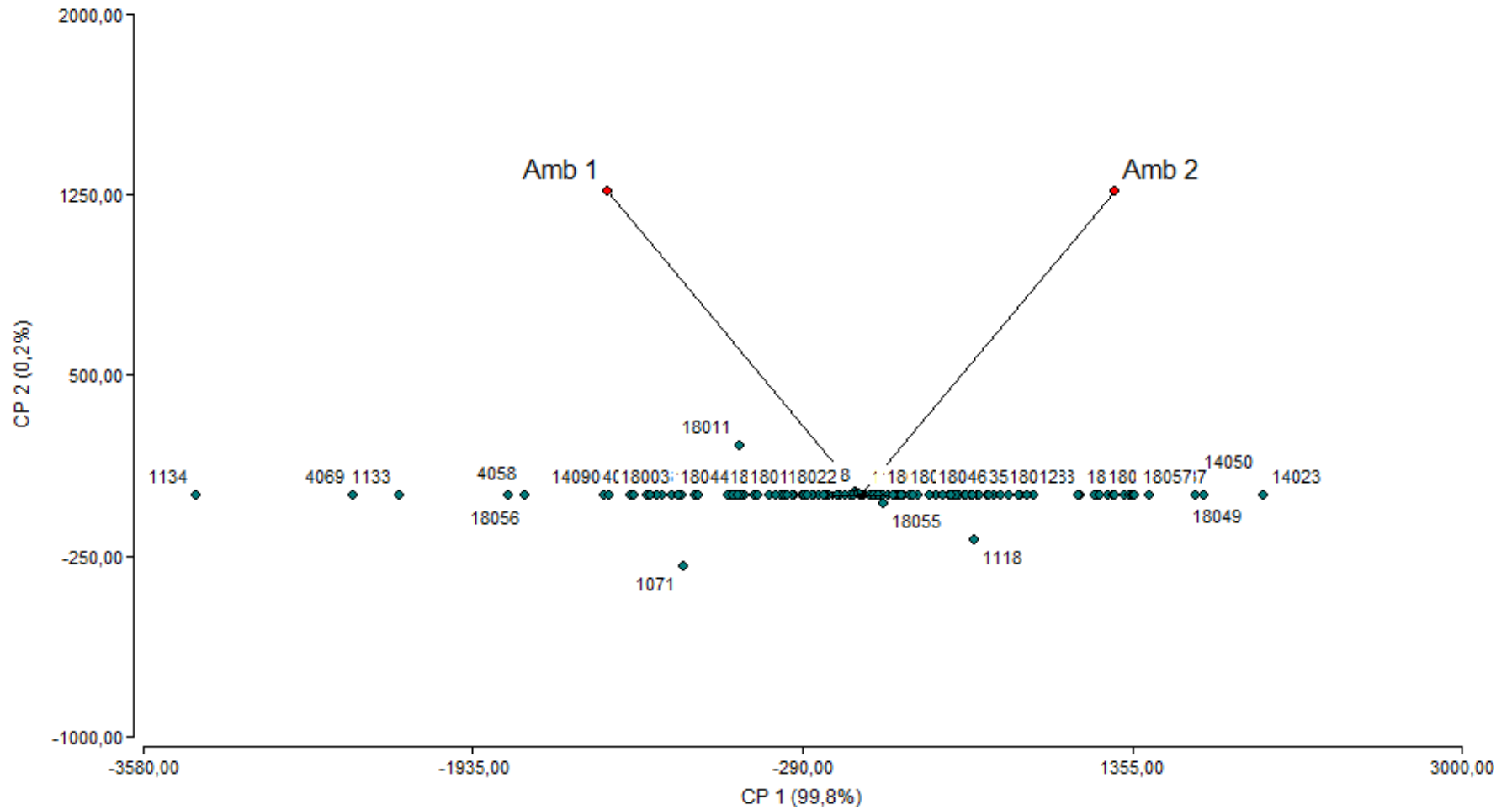
El gráfico obtenido para la variable LMZ (Figura 4) indica que el ambiente 1 presenta mayor interacción positiva con las poblaciones ARZM04092, ARZM04041 y ARZM04081, mostrando el ambiente 2 mayor interacción positiva con las poblaciones ARZM01113, ARZM01118, ARZM01139 y ARZM18048.

Para la variable PROL, la representación gráfica se muestra en la figura 5. En la misma puede observarse que el ambiente 1 muestra mayor interacción positiva con las poblaciones ARZM04041, ARZM04076, ARZM04015 y ARZM03031, mientras que en el ambiente 2 las poblaciones con mayores valores de prolificidad son AZM04046 y ARZM14003.

La figura 6 representa gráficamente la interacción genotipo-ambiente para la variable ASI. En la misma puede observarse interacción positiva de algunas poblaciones con ambos ambientes. En el caso del ambiente 1 dicha interacción está dada con las poblaciones ARZM14118, ARZM01128, ARZM01139 y ARZM04064. Para el ambiente 2, la mencionada interacción se da con las poblaciones ARZM14045, ARZM14022, ARZM14037 y ARZM14047.

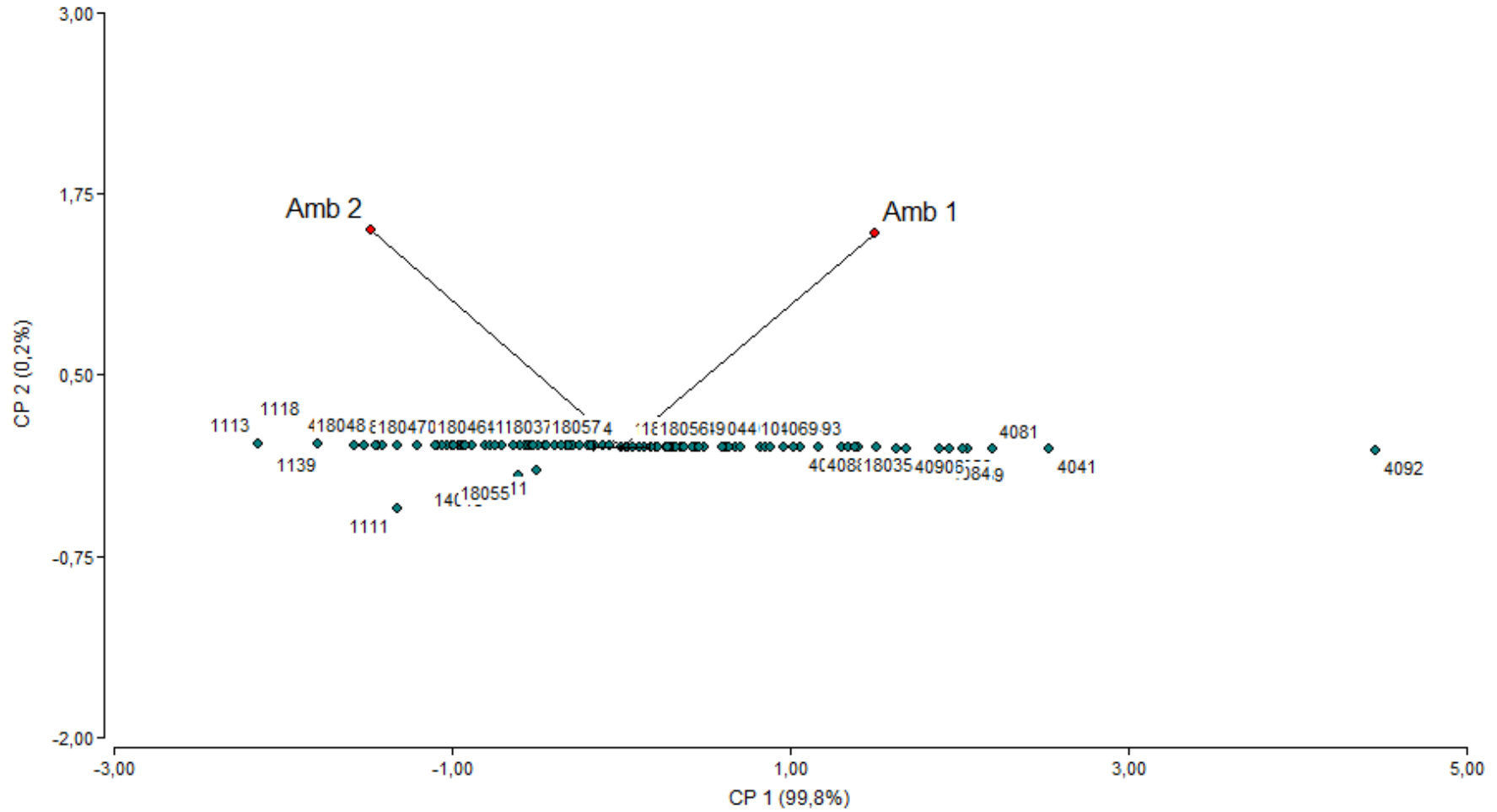
La variable GRHIL se representa gráficamente en la figura 7. En el ambiente 1, las poblaciones ARZM04092, ARZM01134, ARZM01137, ARZM03044 y ARZM14066 son las que presentan mayor cantidad de granos por hilera, en oposición a lo que ocurre en dichas poblaciones en el ambiente 2. En este último, las poblaciones que presentaron mayor número de granos por hilera son ARZM01071, ARZM18011 y ARZM14023.

Figura 3: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable REND



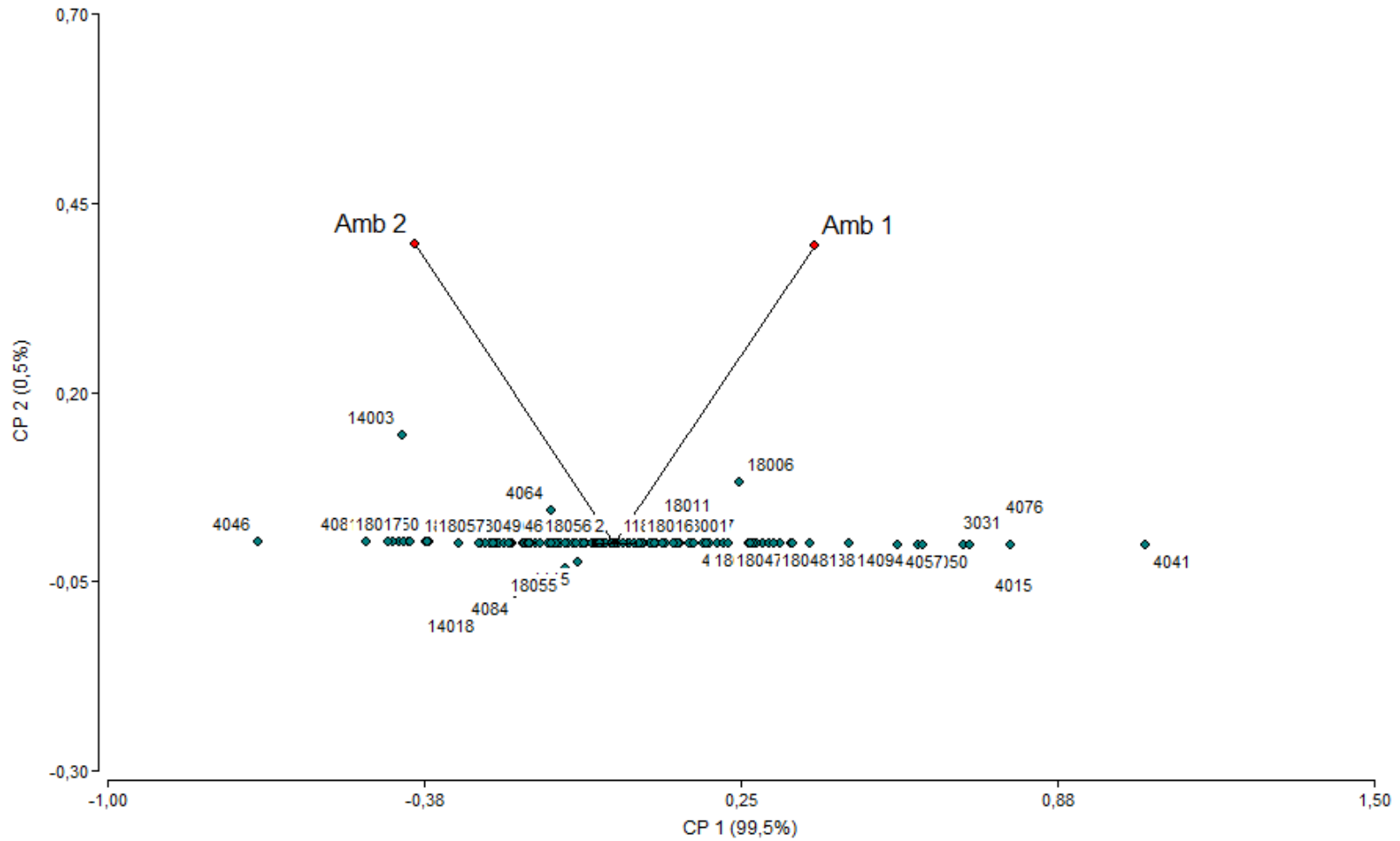
Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 2010/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 2010/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

Figura 4: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable LMZ.



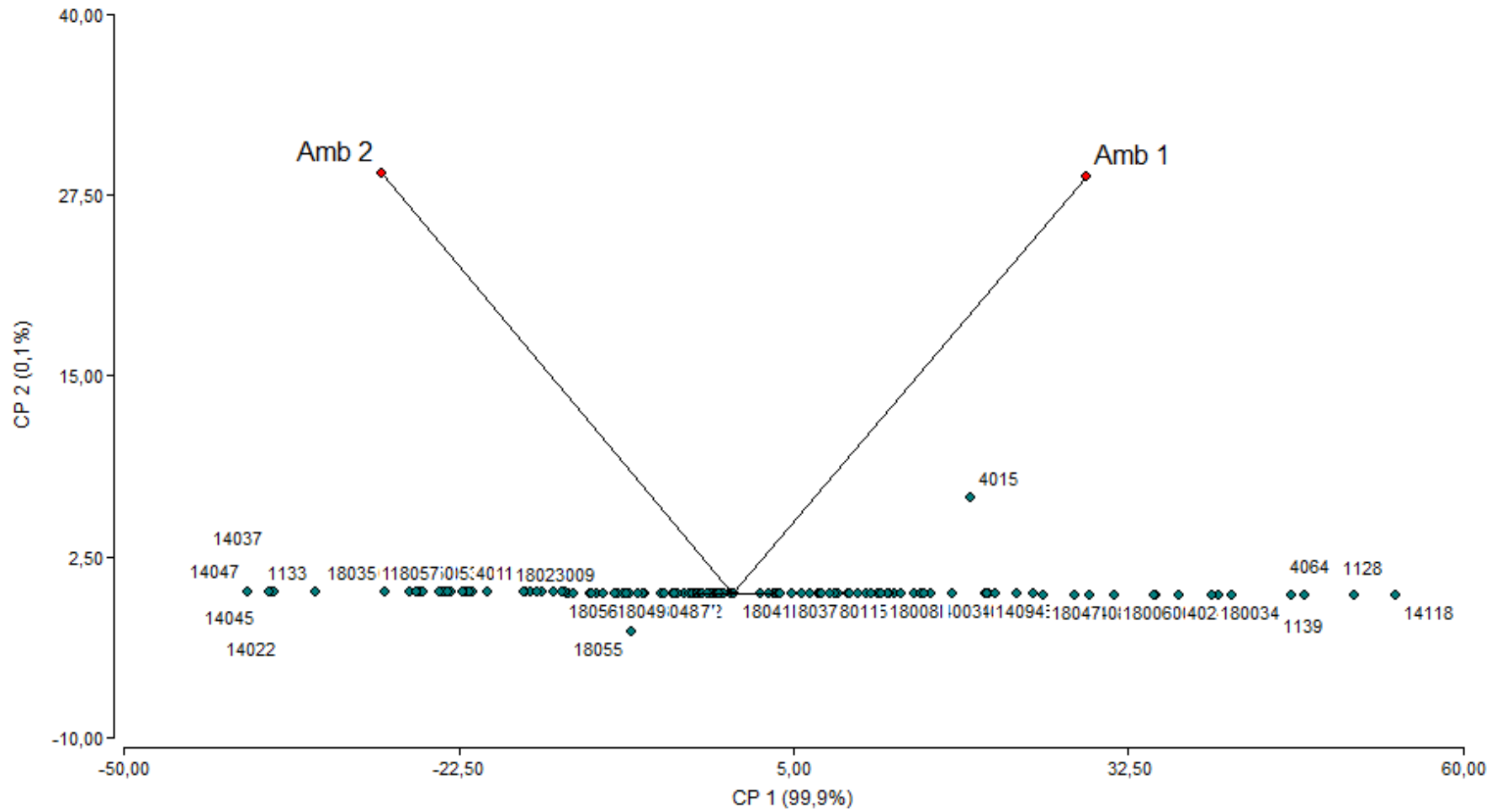
Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 10/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 10/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

Figura 5: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable PROL.



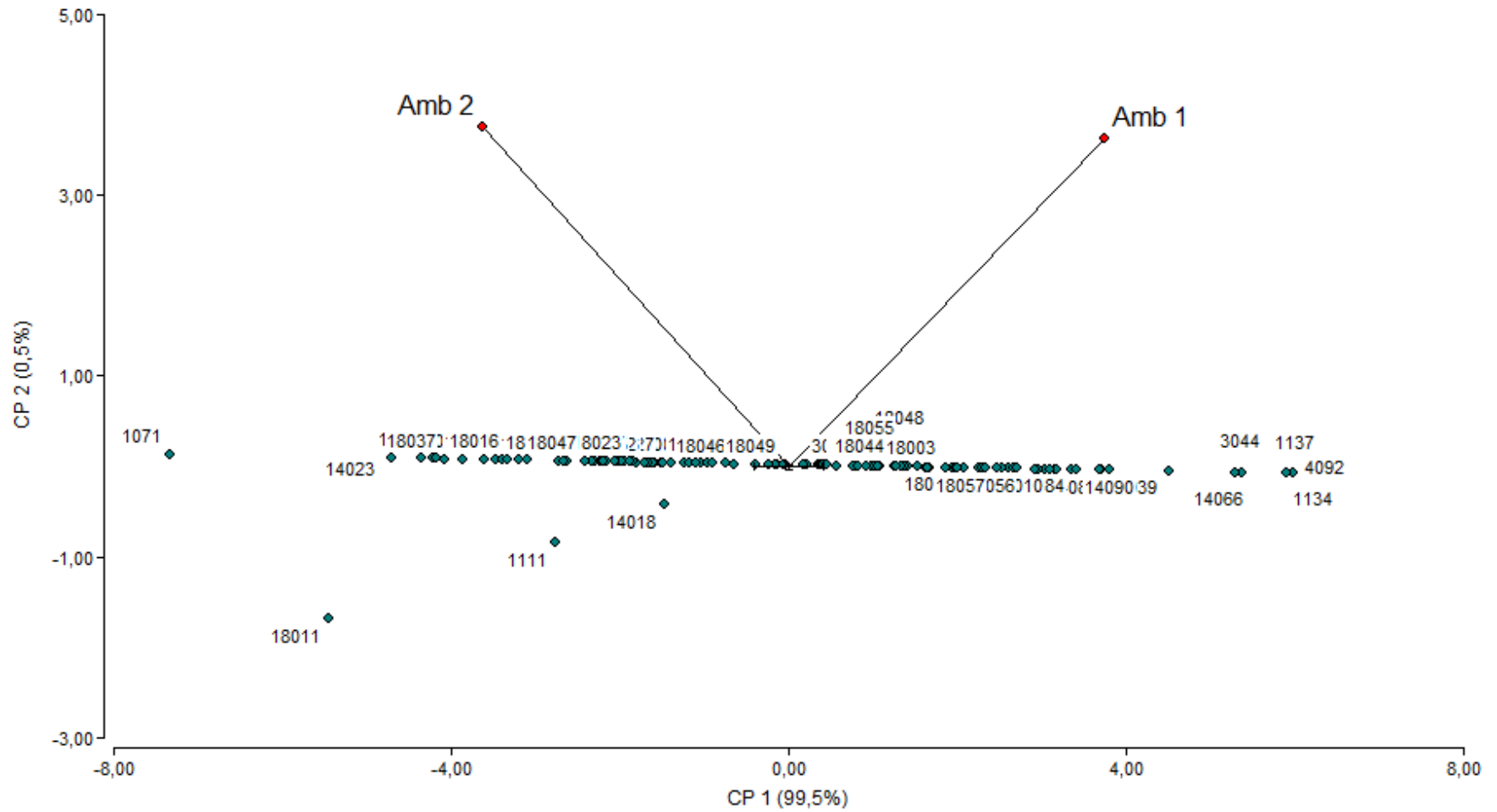
Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 10/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 10/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

Figura 6: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable ASI.



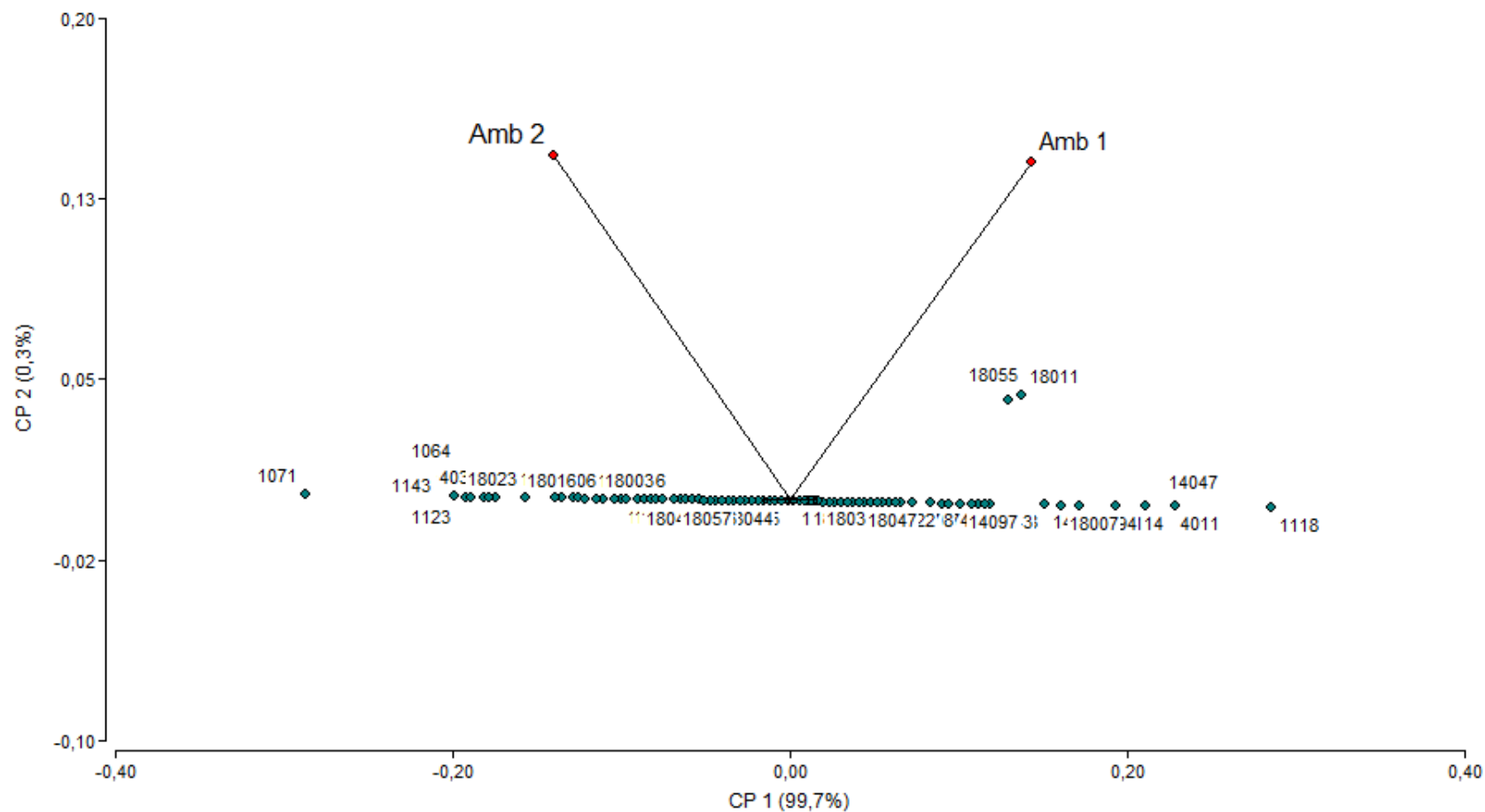
Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 10/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 10/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

Figura 7: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable GRHIL



Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 10/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 10/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

Figura 8: Biplot generado por la aplicación del modelo AMMI para la variable PORQ



Referencias: Amb 1: Ambiente 1 (Pergamino 10/11), Amb 2: Ambiente 2 (Ferré 10/11). Las poblaciones, para una mejor comprensión del gráfico, se identifican únicamente por los números que las representan.

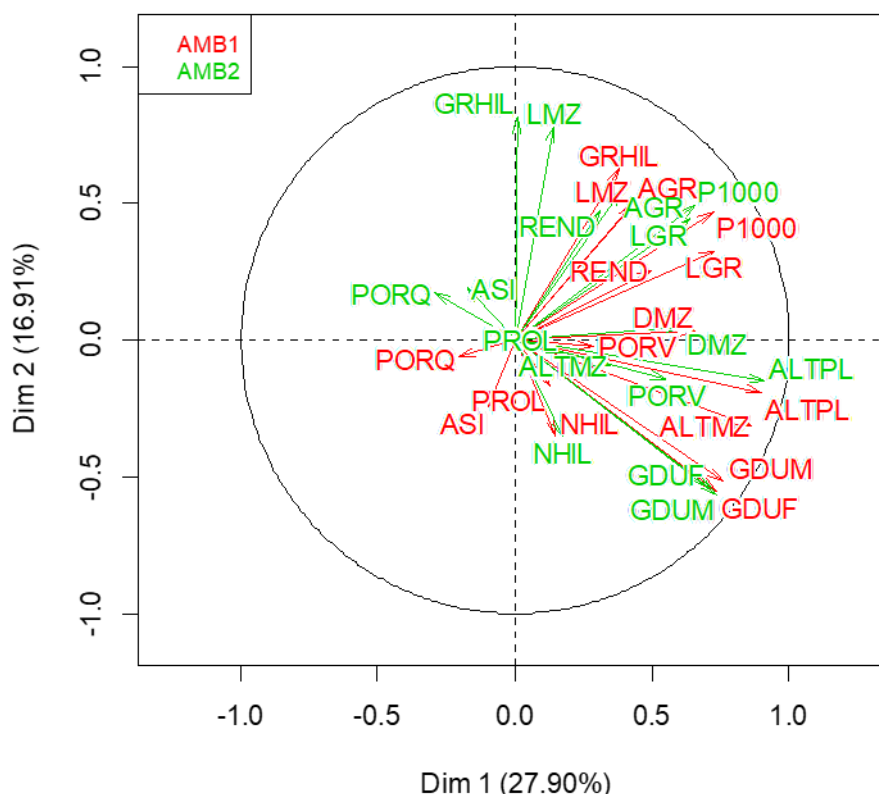
El gráfico obtenido para la variable PORQ (Figura 8) muestra que el ambiente 1 presenta interacción positiva con las poblaciones ARZM01118, ARZM04011, ARZM14047, ARZM18011 y ARZM18055, mientras que el ambiente 2 lo hace con ARZM01071, ARZM01064, ARZM01143 y ARZM01123.

En los gráficos precedentes no puede determinarse una población que presente interacción para las seis variables. Además, las interacciones no reflejan ningún patrón que permita relacionarla ni con la forma racial ni con el origen geográfico.

IV-2.2. Análisis Factorial Múltiple (AFM)

En la figura 9 se muestra la configuración de las variables en el plano.

Figura 9: AFM. Representación de las variables sobre las dos primeras dimensiones



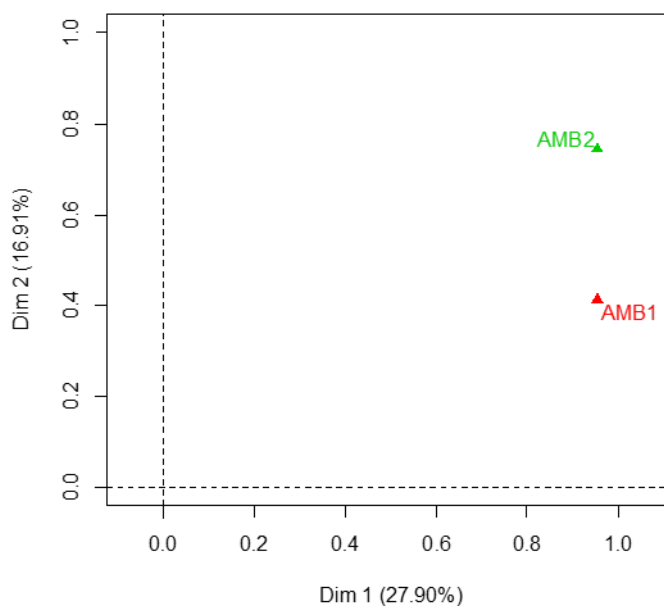
Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas. AMB1: Ambiente 1; AMB 2: Ambiente 2

Como se observa en el gráfico, la mayoría de los vectores que representan las mismas variables en ambos ambientes forman un ángulo muy pequeño, es decir, están bastante próximos en el plano. Esto indicaría que las variables analizadas, en los ambientes evaluados presentarían un comportamiento estable. Las variables con mayor peso en el primer factor, el cual explica un 27,9% de la variabilidad, serían las relacionadas a ciclo a floración, altura, peso de 1000 granos y largo y ancho de grano. En el segundo factor las variables granos por hilera y longitud de mazorca son las que más contribuirían a diferenciar a las poblaciones. Este segundo factor explica un 16,91% de la variabilidad para las poblaciones y ambientes evaluados.

La distribución de las variables en el plano indicaría que no existe una interacción genotipo - ambiente multivariada significativa. Sin embargo, variables como ASI y PROL en mayor medida y LMZ, REND y GRHIL en menor importancia, sugieren una interacción específica, que no llegaría a manifestarse en forma multivariada por su pequeño aporte a la variabilidad general. Esto último se verifica en la corta longitud de los vectores asociados a dichas variables.

La representación de los dos ambientes sobre el plano principal presentado en la figura 10 destaca la alta relación entre ambos ambientes, en especial para las variables asociadas a la Dimensión 1. Podría, sin embargo, plantearse una interacción (aunque no muy elevada) para las variables asociadas a la Dimensión 2.

Figura 10: AFM. Representación de los ambientes en el plano principal:

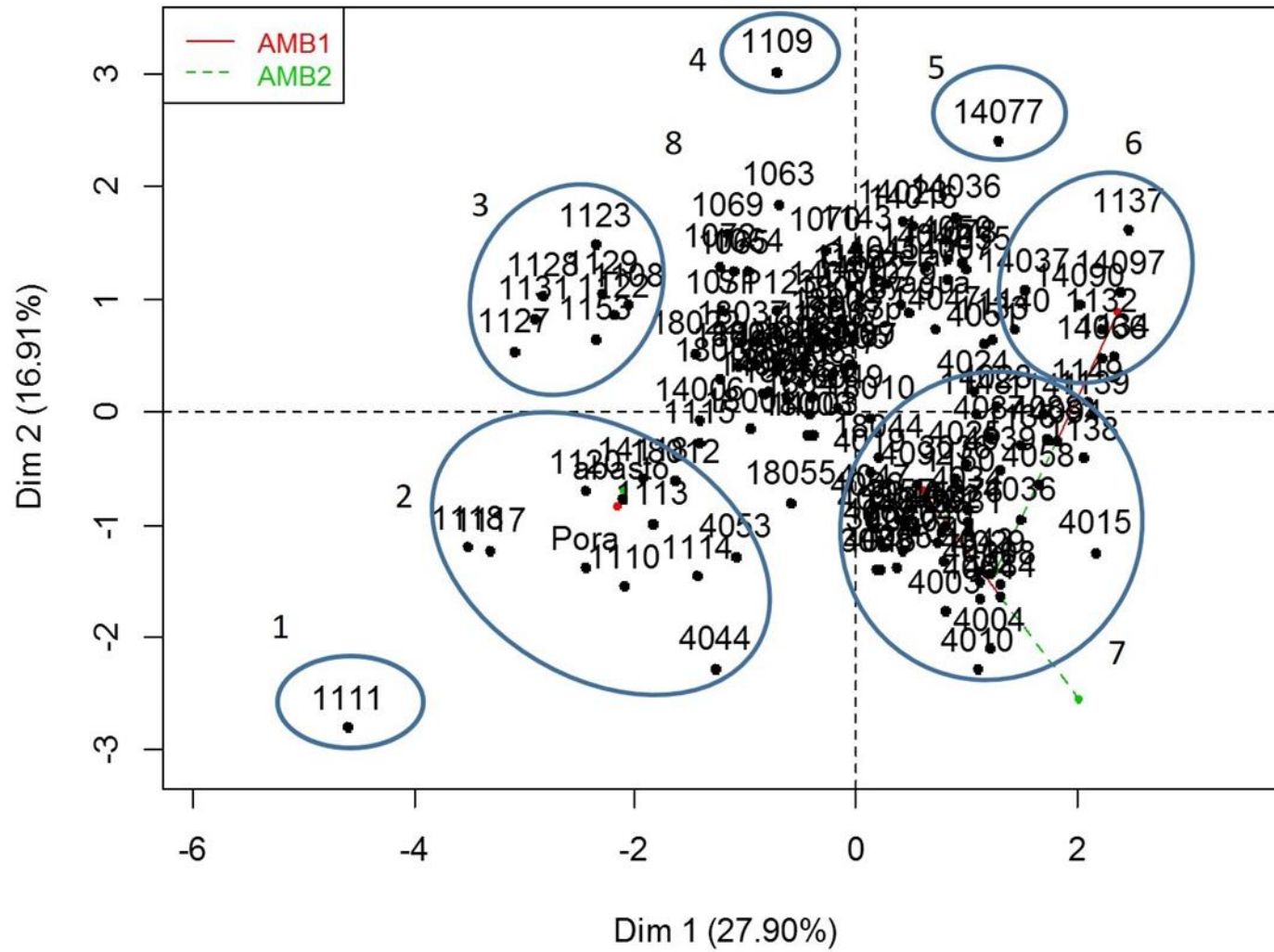


Referencias: AMB1: Ambiente 1; AMB 2: Ambiente 2

La distribución de las poblaciones evaluadas en el plano se muestra en la figura 11, en la cual pueden identificarse 8 grupos.

El grupo 1 está conformado únicamente por la población ARZM01111 que presenta los valores más bajos para todas las variables evaluadas. El grupo 2 está representado por poblaciones que poseen bajo rendimiento, son de ciclo a floración corto, de baja altura, con mazorcas y granos pequeños. El grupo 3 contiene poblaciones de tamaño de mazorca y grano intermedios, de bajo rendimiento y altura y de ciclo a floración corto. La población ARZM01109 conforma el grupo 4 y es la que presenta mazorcas más largas y con mayor número de hileras de todas las poblaciones estudiadas, teniendo rendimiento, altura y ciclo a floración intermedios. Los grupos 5, 6 y 7 son los que representan poblaciones con rendimientos más elevados, de mayor altura tanto de planta como de inserción de espiga y de ciclo a floración más largo, diferenciándose entre ellos por el segundo factor. El grupo 5 está constituido únicamente por la población ARZM14077 y posee mazorcas largas con un elevado número de hileras, el grupo 7 es opuesto al anterior con mazorcas más cortas y menor número de hileras en su longitud y el grupo 6 tiene un comportamiento intermedio ante estas variables. El grupo 8 es el más numeroso en cuanto al número de poblaciones que lo integran y presenta valores intermedios para todas las variables evaluadas.

Figura 11: AFM. Representación de las poblaciones en el plano principal



IV-3. DISCUSIÓN

El ANOVA realizado indica que existe efecto de genotipo significativo o altamente significativo lo cual demuestra la presencia de variabilidad entre las poblaciones locales evaluadas. También se observan diferencias significativas o altamente significativas para el efecto del ambiente para la gran mayoría de las variables. Esto indicaría que las poblaciones presentarían un comportamiento diferente en cada uno de los ambientes en los que se evaluaron.

A diferencia de los efectos de genotipo y ambiente, la interacción genotipo-ambiente mostró efectos no significativos para la mayoría de las variables. Esto evidenciaría que las variables evaluadas se comportarían de forma estable en los ambientes bajo estudio. Por lo mencionado, los diferentes genotipos podrían seleccionarse, para eventualmente ser utilizadas como progenitores en programas de mejoramiento, para ambos ambientes ya que se comportarían de manera similar frente a los caracteres evaluados. En aquellas variables que muestran interacción, ya sea significativa o altamente significativa, podrían seleccionarse determinadas poblaciones o genotipos para cada uno de los ambientes utilizados. A pesar de lo mencionado, sería interesante poder realizar las evaluaciones en ambientes más contrastantes, lo cual permitiría validar los resultados obtenidos.

La presencia de interacción genotipo-ambiente indicaría la inconsistencia en la performance de las poblaciones a través de los ambientes en que fueron evaluadas (Workie *et al.*, 2013). Por otro lado, debido a la presencia de esta interacción, no podrían predecirse el comportamiento de los genotipos en diferentes ambientes utilizando los datos de uno de ellos (Álvarez y Ruiz de la Galarreta, 1999). Workie *et al.* (2013) indican que el análisis de la variancia es un procedimiento muy empleado para determinar la magnitud de la interacción genotipo-ambiente pero no provee información sobre la contribución de genotipos individuales a dicha interacción. Para afrontar este problema se han desarrollado diferentes procedimientos estadísticos siendo los modelos AMMI muy utilizados en el fito-mejoramiento. Álvarez y Ruiz de la Galarreta (1999), recurrieron a este tipo de modelo para evaluar el rendimiento en poblaciones locales de maíz del norte de España a través de 12 ambientes, determinando que las poblaciones locales pueden proveer germoplasma de utilidad para el mejoramiento en áreas ecológicas en las cuales se encuentran adaptadas y presentan un comportamiento superior a otros materiales. Por lo mencionado, para las variables en que la interacción es significativa o altamente significativa se justifica el uso de un modelo AMMI que permita evaluar dicha interacción.

Las poblaciones que se encuentren ubicadas próximas al origen de coordenadas serán las que tendrán un comportamiento más estable al ser probadas en los distintos ambientes, mientras que aquellas con posiciones extremas, serán las más inestables y los responsables de la interacción altamente significativa detectada en los datos. El término estabilidad se define en este trabajo como la habilidad que presenta un genotipo para ser consistente en varios ambientes (Balzarini *et al.*, 2010).

En los modelos AMMI pueden introducirse tantos términos multiplicativos como sea necesario para explicar la variabilidad de la interacción siendo el máximo el número de ambientes por lo cual es preciso determinar la cantidad de términos multiplicativos a incluir de forma tal que el modelo resulte ser el más adecuado (Marticorena, tesis de maestría en elaboración). En este estudio, dado que se han ensayado únicamente dos ambientes de evaluación, al aplicar el modelo AMMI, las dos primeras CP explican el 100% de la variabilidad.

Para las variables en que se aplicó el modelo AMMI en el presente trabajo, la mayoría de las poblaciones mostraron un comportamiento estable en ambos ambientes. En los respectivos gráficos únicamente pueden distinguirse aquellas poblaciones más inestables, es decir, las más alejadas del centro del eje de coordenadas. El comportamiento diferencial de esas poblaciones en cada uno de los ambientes es el responsable de las interacciones significativas o altamente significativas detectadas a través de los ANOVA. La gran estabilidad encontrada para la mayoría de los genotipos podría estar explicada porque, a pesar de haber diferencias significativas o altamente significativas del ambiente para la mayoría de las variables, ambos ambientes se encuentran relativamente cercanos geográficamente.

En resumen, la aplicación de los modelos AMMI permitió individualizar a las poblaciones responsables de la interacción genotipo-ambiente detectada en el Análisis de la Varianza aplicado a las variables rendimiento, longitud de mazorca, sincronía entre la floración masculina y femenina, granos por hilera, prolificidad y porcentaje de quebrado. Por otra parte, los resultados obtenidos permitieron conocer cuáles de las poblaciones en estudio son las más estables.

Kumar y Singh (2015) concluyeron que el modelo AMMI puede ser usado en forma satisfactoria en el mejoramiento genético de plantas para determinar la estabilidad en rendimiento en maíz bajo diversas condiciones ambientales.

Si bien los modelos AMMI tienen un rol muy importante en el estudio de la interacción, una vez detectada su existencia, ya que posibilitan profundizar el análisis, tienen una limitación. Por tratarse de una técnica univariada, sólo es posible estudiar de a una variable por vez, no posibilita el análisis conjunto de las variables

involucradas en la interacción entre sí ni con el resto de los caracteres analizados (Marticorena, tesis de maestría en elaboración).

Para salvar este inconveniente, en los últimos años se han desarrollado técnicas estadísticas que permiten el análisis simultáneo de un grupo de poblaciones, variables y condiciones o ambientes en forma conjunta. Estas técnicas permiten la obtención de una estructura consenso capaz de sintetizar toda la información disponible, y además brindan la posibilidad de analizar el comportamiento de la interacción genotipo-ambiente (Zuliani *et al.*, 2012). Dentro de estos, uno de los métodos más utilizados es el de Análisis Factorial Múltiple (AFM), el cual es un método factorial adaptado al tratamiento de tablas de datos en las que un mismo conjunto de individuos se describe a través de varios grupos de variables. Los grupos de variables pueden surgir de la utilización conjunta de variables de diferente naturaleza, cuantitativas y cualitativas, o del manejo de un mismo conjunto de variables medidas en distintos periodos de tiempo, condiciones o ambientes (Abascal Fernández y Landaluce Calvo, 2002). El objetivo de esta técnica es la búsqueda de una estructura común o consenso entre las diferentes condiciones (Vitelleschi y Chavasa, 2015). Además, esta metodología permite identificar aquellas variables que presentan interacción con el ambiente a través de los vectores que se forman entre ellas. La formación de un ángulo agudo entre una misma variable en los dos ambientes, indica ausencia de interacción variable-ambiente. A medida que el ángulo entre los vectores de la misma variable en los diferentes ambientes se hace mayor, denota la presencia de interacción para esa variable a través de los ambientes evaluados. En la figura 9 se puede observar que la mayoría de los vectores que representan a las variables en los dos ambientes muestran un ángulo muy pequeño, indicando que las mismas son estables en las condiciones evaluadas. Por otro lado, las variables ASI, LMZ, REND, GRHIL, PORQ y PROL son las que presentan mayor ángulo entre los dos ambientes, indicando la presencia de interacción para dichos caracteres. La presencia de variables con un comportamiento estable, contrastada con aquellas que presentan un comportamiento menos estable, pone en evidencia la existencia de interacción variable-ambiente multivariada (Zuliani, 2012).

Vitelleschi y Chavasa (2015), al evaluar variedades de trigo pan en dos ambientes pudieron identificar, utilizando AFM, aquellas variables que resultaron más sensibles a los cambios ambientales, determinando además que variedades fueron menos afectadas por el ambiente, como así también las que resultaron más afectadas por el mismo. Además, las autoras determinaron que el tratamiento de tablas múltiples supone un enfoque mucho más completo que si se utilizaran tablas de doble entrada. También aseveran que la técnica de AFM posee información mucho más rica en

cuanto a la interpretación del efecto del ambiente y sus interacciones. A la misma conclusión arribaron Zuliani *et al.* (2012) al evaluar 31 poblaciones nativas de maíz de Argentina.

Fernández Aguirre *et al.* (2013) mencionan que el AFM proporciona resultados de gran interés desde el punto de vista de la interpretación ya que en un mismo gráfico pueden aparecer conjuntamente individuos, variables y ambientes. Un estudio minucioso de estos planos permite detectar la tendencia general de los individuos, los grupos que definen en mayor medida esta tendencia, así como los individuos raros, es decir, aquéllos cuyo comportamiento es diferente según el grupo que los describe.

En el presente trabajo puede determinarse que aplicando las diferentes metodologías (AMMI y AFM) se arribó a resultados similares. Las variables que muestran interacción con ambas metodologías son las mismas (REND, PROL, LMZ, GRHIL, PORQ y ASI). El resto de los descriptores evaluados presentaron un comportamiento estable en ambos ambientes.

Más allá de estas similitudes y de que ambas metodologías permiten ampliar el estudio de la interacción genotipo-ambiente, el AFM lo hace desde el punto de vista multivariado pudiendo determinarse las interacciones entre las variables evaluadas. Abascal Fernández y Landaluce Calvo (2002) mencionan que una característica importante del AFM son las representaciones gráficas en las que se pueden estudiar las relaciones entre las variables de las diferentes tablas, lo que permite analizar la estabilidad de las mismas. Del Médico (2016), arribo a una conclusión similar, indicando que el AFM posee la ventaja sobre otras metodologías de permitir el estudio de la relación entre variables.

Zuliani (2012) menciona que los resultados del AFM frente a la técnica tradicional, proporciona información más rica, sobre todo en las interpretaciones referidas al ambiente. La autora indica además, que el principal obstáculo que presenta esta técnica radica en sus fundamentos teóricos menos difundidos y por resultar de mayor complejidad para el investigador no avezado en métodos estadísticos.

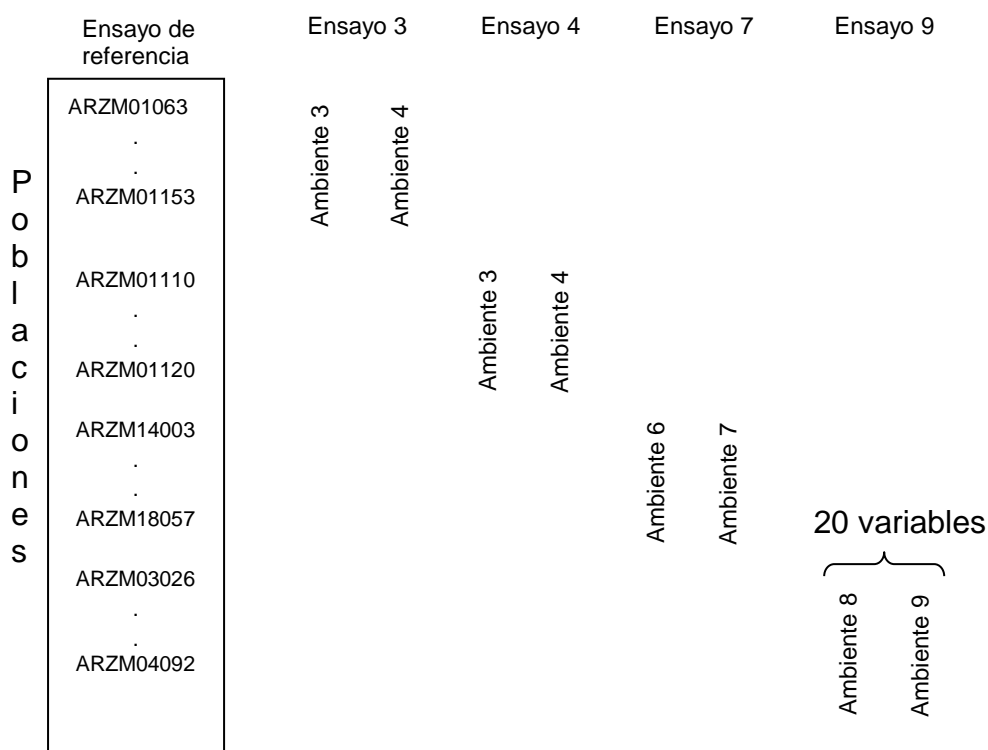
CAPÍTULO V- INTEGRACIÓN DE INFORMACIÓN PROVENIENTE DE DIFERENTES ENSAYOS DE CARACTERIZACIÓN

V-1. MATERIAES Y METODOS

V-1.1. Material vegetal

Se analizarán los datos del ensayo de referencia descrito en el apartado “III-2., Ensayo de referencia” y los ensayos 3, 4, 7 y 9 detallados en el apartado “III-1., Material vegetal”. Fueron seleccionados estos cuatro ensayos debido a que incluyen una adecuada muestra de la diversidad presente en el BAP en cuanto a formas raciales y orígenes geográficos y se adaptan a los ambientes de evaluación. El material vegetal utilizado se representa gráficamente en la figura 12.

Figura 12: Ensayos y ambientes de evaluación a utilizar en los análisis



IV-1.2. Metodología

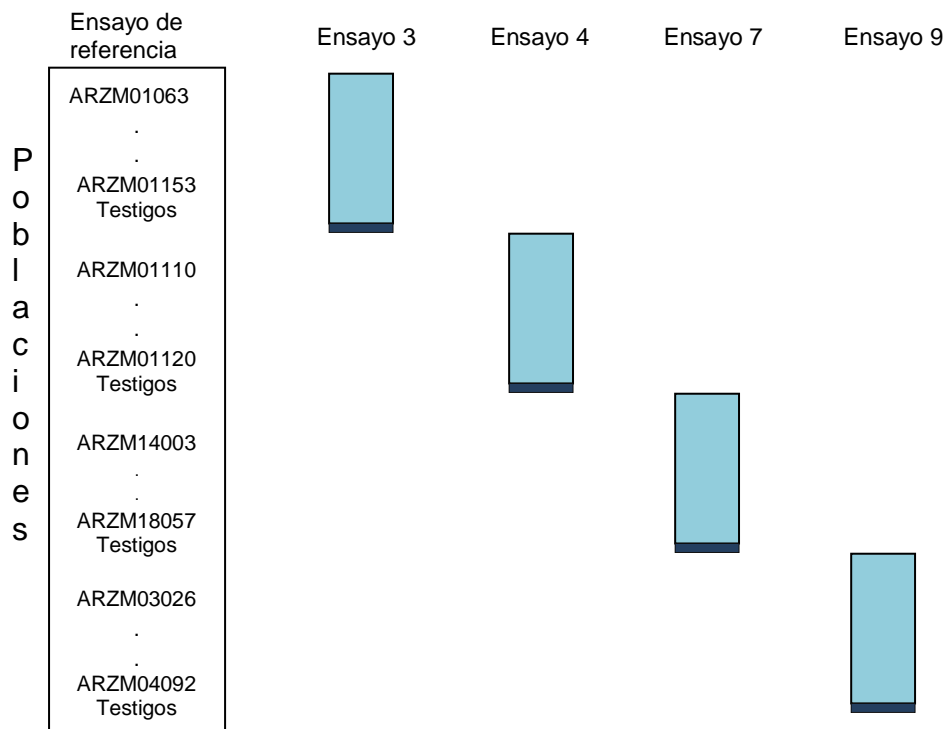
El BAP conserva 2.549 poblaciones locales de maíz por lo cual es prácticamente imposible evaluar las entradas en su totalidad en una sola campaña agrícola. Para que el material sea manejable experimentalmente, se lo divide en diferentes ensayos en los cuales se evalúa un grupo de materiales a través de un mismo conjunto de variables, algunas de las cuales pueden llegar a ser muy

influenciadas por el ambiente. Para caracterizar la totalidad de las poblaciones evaluadas en distintos ensayos en forma conjunta, se compararon distintas técnicas estadísticas. Como fuente de comparación se utilizó el ensayo de referencia, ya que en este último no existe la problemática del concatenamiento de poblaciones caracterizadas en condiciones diferentes. Para ello, los datos registrados se promediaron para cada población y variable a través de las repeticiones y los ambientes. Varios autores (Zuliani, 2012; Marticorena *et al.*, 2010; Reeb *et al.*, 2007 y Epinat-Le Signor *et al.*, 2001) justifican la concordancia entre esta metodología con otras técnicas más complejas, siendo además la más tradicionalmente utilizada. Los resultados obtenidos se contrastaron con tres estrategias de análisis: promedio aritmético, modelo lineal mixto y análisis multivariado a tres modos o tres vías. En el primer caso se promediaron los ambientes y repeticiones, obteniéndose un único valor para cada población a lo largo de las “*p*” variables. En la técnica de modelos mixtos se aplicó el modelo propuesto por Reeb *et al.* (2007), que plantea la concatenación de los promedios para las poblaciones a través de las repeticiones y ambientes en los distintos ensayos estimando y eliminando los efectos que no sean los inherentes al genotipo. Por último se consideró la factibilidad de la utilización de metodologías de análisis multivariado a tres modos o tres vías para la obtención de una configuración de poblaciones ‘promedio’ o ‘consenso’. Cada una de las metodologías empleadas se describe con mayor detalle a continuación.

V-1.2.1. Promedio aritmético

Para cada variable y población, se obtuvo la media aritmética de los valores registrados a través de las repeticiones y ambientes en que las mismas se evaluaron (Figura 13). Zuliani (2012) y Marticorena *et al.* (2010), concluyen en sus trabajos que si el objetivo del estudio es encontrar similitudes entre poblaciones de maíz evaluadas en dos ambientes, o condiciones agronómicas diferentes, es posible utilizar esta metodología ya que existe una alta concordancia con los resultados obtenidos mediante técnicas de más compleja aplicación. Una vez realizados los promedios se organizó una matriz de datos con todas las poblaciones evaluadas en los cuatro ensayos y los mismos se analizaron mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP). Para obtener una mejor claridad en la interpretación de los resultados, un Árbol de Mínima Distancia (MST) originado de la matriz de distancias euclídeas obtenida a partir de los datos cuantitativos estandarizados, fue superpuesto sobre el gráfico del ACP.

Figura 13: Representación gráfica de la obtención de la media aritmética a través de las repeticiones y ambientes de los valores registrados



V-1.2.2. Modelo lineal mixto para la estimación y eliminación de efectos

Una alternativa para establecer las relaciones existentes en la totalidad del material evaluado en diferentes condiciones ambientales, es la utilización de un modelo lineal mixto que refleje el escenario experimental planteado y permita estimar y eliminar los efectos que se dan en las condiciones particulares de evaluación. Para poder aplicar esta metodología, es necesario que los ensayos cuenten con la presencia de poblaciones comunes (testigos) que justifican o permiten combinar todos los ensayos y ambientes en un solo modelo (Taba *et al.*, 1998).

Para realizar este análisis, se construyó una matriz de datos con todas las poblaciones evaluadas. Las filas corresponden a las poblaciones y las columnas a los caracteres evaluados. Dentro de los factores analizados, se incluyeron ensayo y ambiente, tal como se describió en el apartado “III-1., Material Vegetal”.

Una vez obtenida dicha matriz, y para cada una de las variables de respuesta, se estimaron y eliminaron los efectos de ensayo, ambiente, bloque, y las correspondientes interacciones, para lo cual se utilizó el modelo planteado por Reeb *et al.* (2007), detallado a continuación:

$$y_{jkl} = \mu + E_i + A_j + P_l + P_l \times A_j + P_l \times E_i + A_j \times E_i + B_{k(i,j)} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: y_{jkl} = Cada una de las variables de respuesta en la caracterización

μ = media general

E_i = efecto de ensayo, $i = 1, \dots, 4$;

A_j = efecto de ambiente, $j = 1, \dots, 4$;

$B_{k(i,j)}$ = efecto de bloque anidado en ambiente y ensayo, $k = 1, 2$;

P_l = efecto de población, $l = 1 \dots 145$; $l = 1 \dots 60$ si $E = 1$; $l = 1 \dots 45$ si $E = 2$; $l = 1 \dots 32$ si $E = 3$; $l = 1 \dots 8$ si $E = 4$);

$P_l \times A_j$ = efecto de la interacción población por ambiente;

$P_l \times E_i$ = efecto de la interacción población por ensayo;

$A_j \times E_i$ = efecto de la interacción ambiente por ensayo;

ε_{ijkl} = término del error

Todos los efectos fueron considerados aleatorios excepto el efecto de población que se consideró fijo. El modelo fue totalmente desbalanceado y se procesó con el procedimiento proc glm de SAS (SAS Institute, 2008).

Este modelo fue seleccionado de un total de cuatro planteados por Reeb *et al.* (2007), ya que con el mismo se considera una doble conexión de los ensayos a través de las poblaciones testigo y de los ambientes en las experiencias en que estos coinciden, pudiéndose así explicar interacciones de interés. Esto se debe a que algunos de los ensayos analizados fueron evaluados en los mismos ambientes. Además de considerar la interacción clásica correspondiente a genotipo - ambiente (PxA), en el modelo se tienen en cuenta las interacciones genotipo - ensayo (PxE) y ambiente - ensayo (AxE).

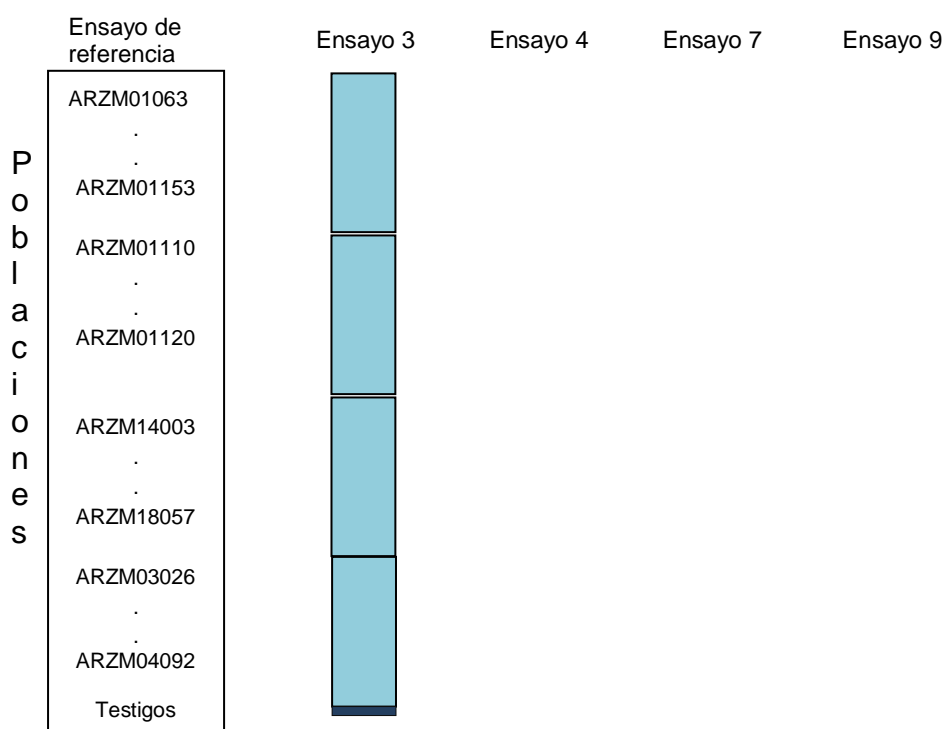
Sobre los datos ajustados y^*_{jkl} :

$$y^*_{jkl} = y_{jkl} - E_i - A_j - P_l \times A_j - P_l \times E_i - A_j \times E_i - B_{k(i,j)}$$

que es equivalente a : $y^*_{jkl} = \mu + P_l + \varepsilon_{ijkl}$

se obtuvieron las medias de cada población (Figura 14), ya que al ser eliminados los efectos ensayo, ambiente, bloque y sus interacciones, la única fuente de variación remanente es la de poblaciones, es decir, tenemos una situación equivalente a que todas las poblaciones hubiesen sido evaluadas en las mismas condiciones ambientales. Sobre estos datos se aplicó un ACP. Sobre el gráfico del ACP se superpuso un Árbol de Mínima Distancia (MST) originado de la matriz de distancias euclídeas obtenida a partir de los datos cuantitativos estandarizados.

Figura 14: Representación gráfica sobre la forma de obtención de medias ajustadas



V-1.2.3. Análisis multivariado de tres modos

En cada uno de los cuatro ensayos mencionados se evaluaron un subconjunto de poblaciones en diferentes condiciones ambientales. Una característica importante en este diseño, al igual que en la aplicación de modelos mixtos, es la presencia de un determinado número de poblaciones que interviene en todos los ensayos (testigos u objetos comunes). En las técnicas de análisis multivariado de tres modos, el primer modo representa las poblaciones, el segundo son los caracteres y el tercero los ambientes. La propuesta consiste en recurrir a un Análisis de Procrustes Generalizado (APG) donde se explota la caracterización relativa de las poblaciones no comunes respecto de las comunes y por transitividad establecer las relaciones entre las no comunes. De esta forma se obtiene una representación simultánea de toda la información de manera que cada población mantiene su posición relativa respecto de los testigos de su condición o ensayo.

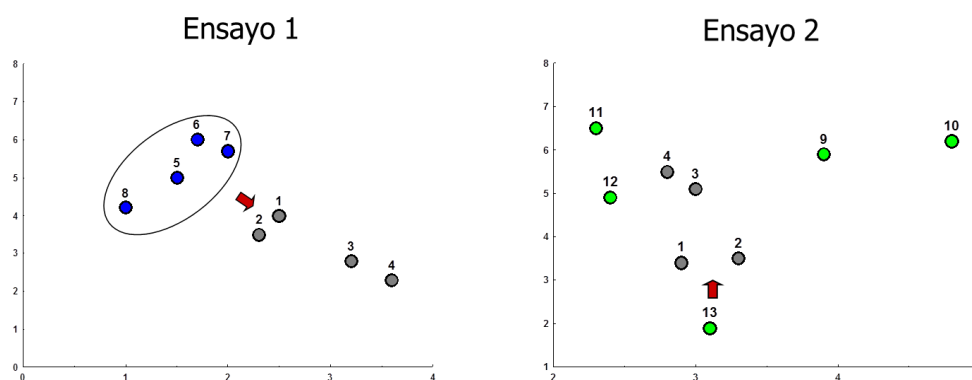
La aplicación de esta metodología exige que se cumplan los siguientes supuestos:

- i) Los individuos comunes deben conformar grupos que presenten diferencias significativas en las variables originales consideradas; y
- ii) Estos grupos deben

permanecer estables a lo largo de las condiciones, es decir no deben presentar interacción genotipo - ambiente.

A continuación se presenta una esquematización simplificada del algoritmo desarrollado por Lavalle y Bramardi (2009 y 2016) sobre un conjunto de datos simulados. En la figura 15 que muestra la representación gráfica de los datos, puede observarse que en el caso del ensayo 1, las poblaciones no comunes se encuentran en una posición cercana a los testigos comunes 1 y 2. En el ensayo 2, la población que se encuentra más cerca de los mismos testigos es la 13. Finalizado la aplicación de la metodología de APG a tres vías se esperaría que las poblaciones mencionadas queden representadas en posiciones cercanas entre ellos ya que tienen la característica de ser similares a los testigos 1 y 2. Las poblaciones 9, 10, 11 y 12, siguiendo el mismo razonamiento deberían ubicarse en forma cercana a los testigos 3 y 4.

Figura 15: Representación de las configuraciones originales de los dos ensayos

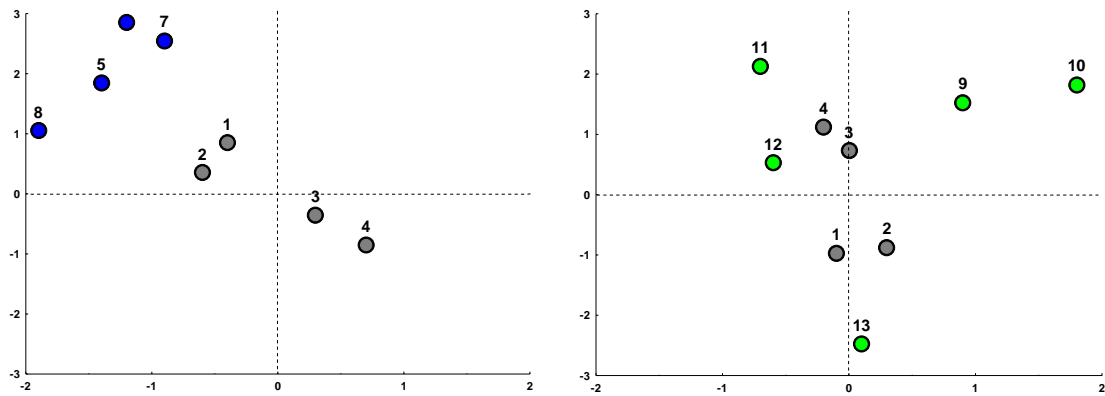


Poblaciones 1,2,3 y 4 comunes a ambos ensayos; poblaciones 5, 6,7 y 8 únicas del ensayo 1 (condición ambiental 1) y poblaciones 9, 10, 11, 12 y 13 únicas del ensayo 2 (condición ambiental 2)

Imagen extraída de Lavalle y Bramardi, 2009.

El primer paso del algoritmo consiste en realizar el centrado de los individuos comunes (1, 2, 3 y 4) y aplicar la misma traslación al resto de las poblaciones, es decir, los individuos comunes se posicionan en el centro de los ejes de coordenadas y el resto se ubican en forma relativa a ellos (Figura 16).

Figura 16: Representación de las poblaciones de los dos ensayos luego de ser centrados en los ejes de coordenadas

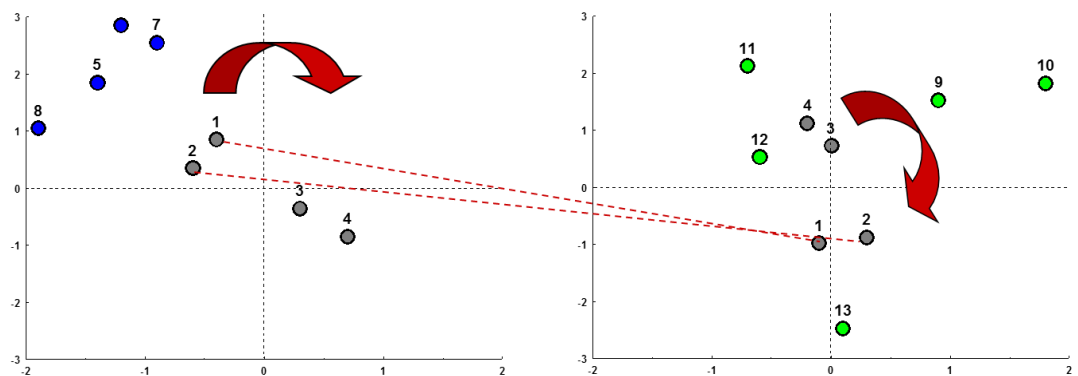


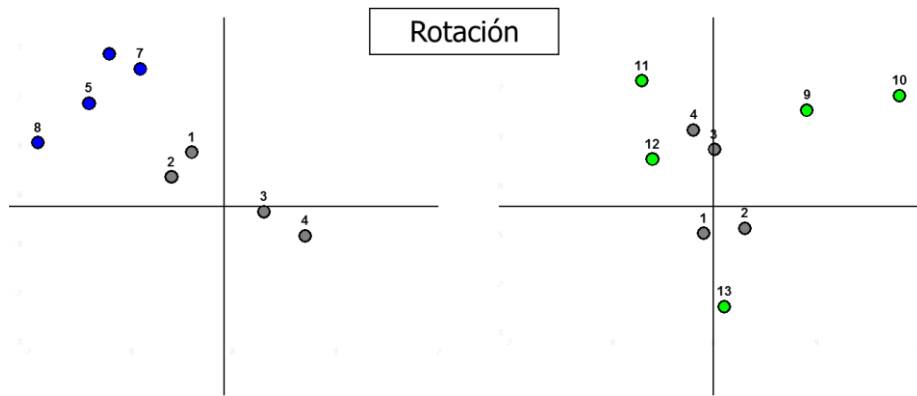
Poblaciones 1,2,3 y 4 comunes a ambos ensayos; poblaciones 5, 6,7 y 8 únicas del ensayo 1 (condición ambiental 1) y poblaciones 9, 10, 11, 12 y 13 únicas del ensayo 2 (condición ambiental 2)

Imagen extraída de Lavalle y Bramardi, 2009.

Continuando con el algoritmo se realiza el proceso de rotación (Figura 17). Mediante este proceso se genera una matriz de rotación en el espacio que reubica a las poblaciones comunes y a las poblaciones en estudio (no comunes) de manera tal que se mantengan las distancias entre individuos de las configuraciones originales y se minimice la suma de cuadrado entre poblaciones comunes análogas (provenientes de ambos ensayos).

Figura 17: Representación de las poblaciones de los dos ensayos en el momento de la rotación.



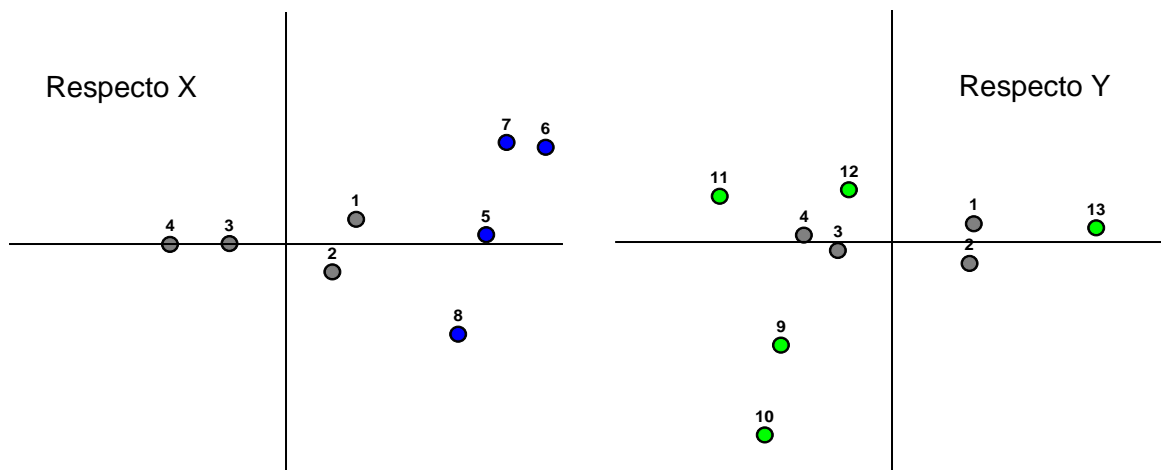


Poblaciones 1,2,3 y 4 comunes a ambos ensayos; poblaciones 5, 6,7 y 8 únicas del ensayo 1 (condición ambiental 1) y poblaciones 9, 10, 11, 12 y 13 únicas del ensayo 2 (condición ambiental 2)

Imagen extraída de Lavalle y Bramardi, 2009.

El último paso es el de reflexión (Figura 18). Este paso no siempre es necesario y puede realizarse tanto sobre el eje de las x como el de las y.

Figura 18: Representación de las poblaciones de los dos ensayos durante el proceso de reflexión.

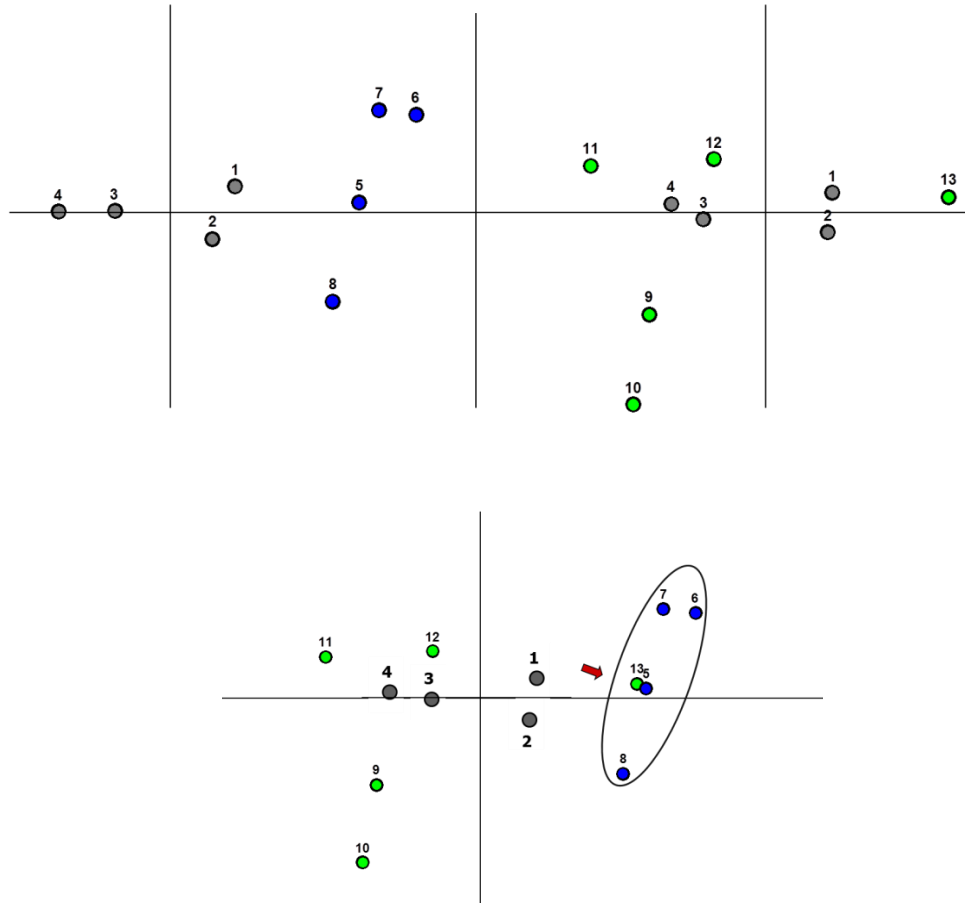


Poblaciones 1,2,3 y 4 comunes a ambos ensayos; poblaciones 5, 6,7 y 8 únicas del ensayo 1 (condición ambiental 1) y poblaciones 9, 10, 11, 12 y 13 únicas del ensayo 2 (condición ambiental 2)

Imagen extraída de Lavalle y Bramardi, 2009.

Luego de estos tres pasos, se produce la superposición de ensayos calculando un consenso o promedio entre individuos comunes (Figura 19).

Figura 19: Representación de las poblaciones de los dos ensayos luego de obtenido el promedio o consenso entre las poblaciones comunes



Poblaciones 1,2,3 y 4 comunes a ambos ensayos; poblaciones 5, 6,7 y 8 únicas del ensayo 1 (condición ambiental 1) y poblaciones 9, 10, 11, 12 y 13 únicas del ensayo 2 (condición ambiental 2)

Imagen extraída de Lavalle y Bramardi, 2009.

La expresión algebraica del proceso es:

$$X_k^C \rightarrow \rho_k X_k^C H_k + T_k$$

Donde X_k^C matriz de datos de poblaciones comunes del ensayo k , ρ factor de escala, H matriz de rotación/reflexión y T matriz de traslación o centrado.

Como se muestra en la figura 19, las poblaciones 5, 6, 7, 8 y 13 quedaron ubicadas juntas y en posiciones cercanas a los testigos comunes 1 y 2. El resto de las poblaciones fueron agrupadas cerca de los testigos comunes 3 y 4. Además, se conserva la posición relativa de las poblaciones dentro de cada ensayo.

La implementación del algoritmo descrito se realizó mediante un programa desarrollado ad hoc en entorno Matlab (Lavalle y Curia, 2016).

Se concluye el proceso con un ACP de la configuración consenso quedando graficadas todas las poblaciones de las diferentes condiciones, posibilitando el análisis de las relaciones entre ellas, de manera de obtener agrupamientos que manifiesten la similitud multivariada existente entre las poblaciones cercanas entre sí. Es decir, se analiza el comportamiento de las poblaciones de cada ensayo a través de su relación con las poblaciones comunes.

V-1.3. Comparación de metodologías

El ensayo de referencia se utilizó como fuente de comparación de las distintas metodologías detalladas anteriormente y validación de los resultados obtenidos con ellas. Para esto, se realizó el promedio de los datos registrados en el mencionado ensayo a través de las repeticiones y los ambientes y a los mismos se le aplicó la técnica de ACP. Un Árbol de Mínima Distancia (MST) originado a partir de la matriz de distancias euclídeas de los datos cuantitativos estandarizados se superpuso sobre el gráfico del ACP para obtener una mejor interpretación de los resultados.

Sobre las configuraciones resultantes en cada metodología, se calculó la matriz de distancia euclídea entre poblaciones y se contrastó con la caracterización obtenida en el ensayo de referencia. La significancia de la correlación entre las matrices de distancia se obtuvo aplicando el test de Mantel.

Los ACP se realizaron, en todos los casos, en base a la matriz de correlaciones. Para determinar el número de Componentes Principales (CP) adecuado se tuvieron en cuenta aquellas que presentan valores propios mayores a 1, la proporción de la variación explicada por cada CP, la variancia total acumulada y la interpretación biológica de los resultados (Peña, 2002; Johnson, 1998). La interpretación visual se obtuvo mediante la construcción de un gráfico bidimensional, utilizando los dos primeros CP.

Para realizar los ACP se utilizó el programa estadístico NTSYS (Numerical Taxonomic System) (Rohlf, 2002).

V-2. RESULTADOS

V-2.1. Ensayo de referencia

En este ensayo, el cual reúne las poblaciones de los ensayos 3, 4, 7 y 9 en una sola experiencia a campo, los primeros cinco autovalores (valores eigen o valores propios), que presentan un valor superior a 1, explican el 81,07% de la variabilidad total de las poblaciones. La primer CP explica el 31,76% de la variabilidad mencionada, la segunda el 18,64%, la tercera el 14,62%, la cuarta el 8,99% y la quinta el 7,4%.

Los autovectores de las primeras cinco CP se muestran en la tabla 4 remarcando en negrita los valores que realizan mayor aporte a la formación de cada CP.

Tabla 4: Autovectores de las primeras cinco CP obtenidas del ensayo de referencia que reúne las poblaciones de los ensayos 3, 4, 7 y 9 en una sola experiencia a campo

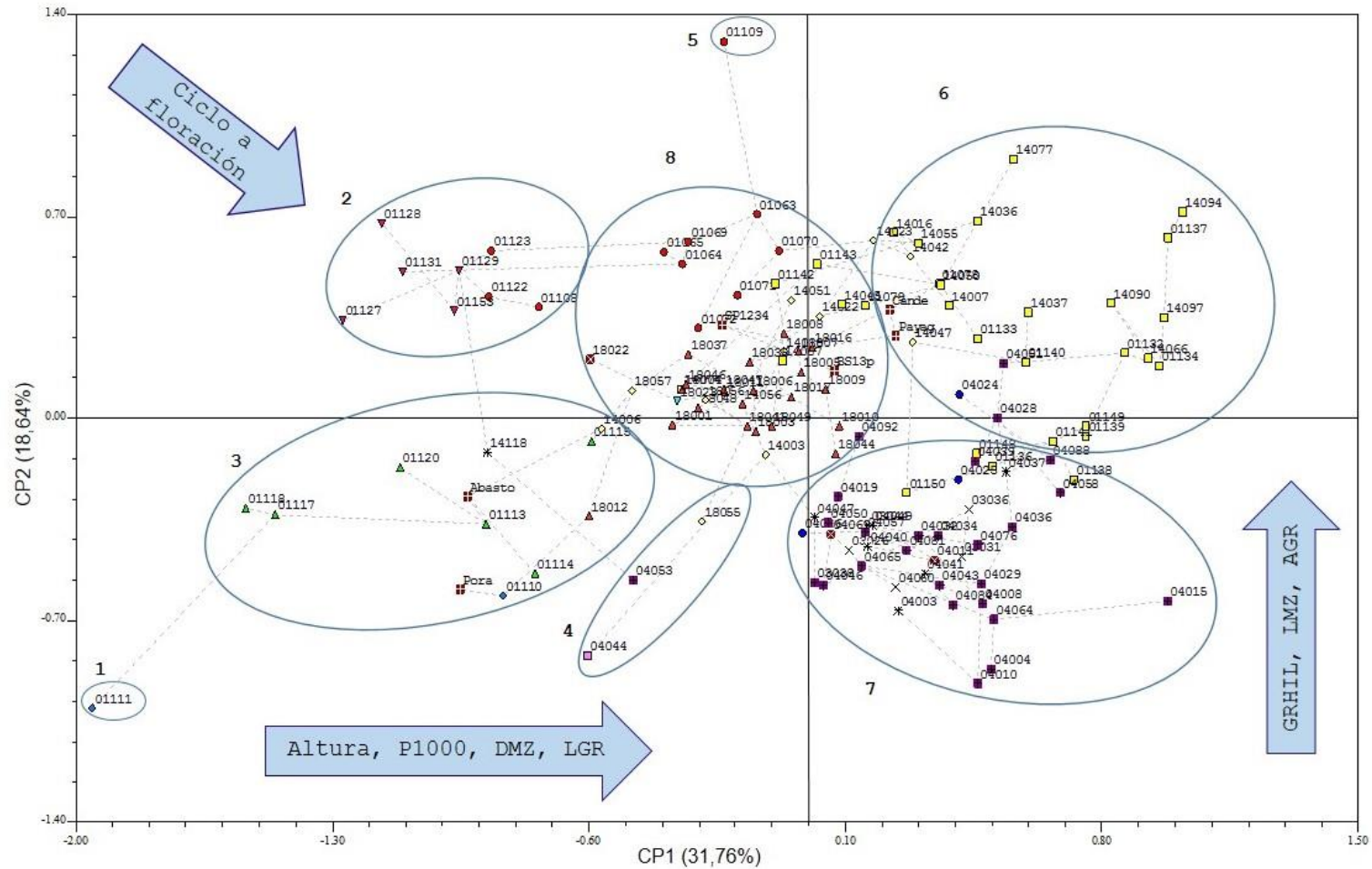
Variables	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
LMZ	0,3888	0,7054	0,1906	0,0788	0,0180
DMZ	0,6143	- 0,0148	-0,6638	-0,2836	-0,1121
NHIL	0,1158	-0,4081	-0,8609	-0,0726	-0,0932
AGR	0,4648	0,5697	0,5417	-0,1420	0,0195
LGR	0,7219	0,3416	-0,3948	-0,1837	-0,0571
GRHIL	0,2725	0,7868	-0,2176	0,1584	0,0304
PROL	0,2098	-0,2568	0,2706	0,6861	-0,1773
P1000	0,7683	0,4882	0,1470	-0,0482	-0,0138
REND	0,4990	0,2774	-0,5074	0,2461	0,0777
ALTPL	0,9234	-0,1996	0,1786	-0,0541	0,0240
ALTMZ	0,8747	-0,3726	0,1662	0,0026	0,0414
GDUM	0,7389	-0,5860	0,2314	-0,0712	0,0215
GDUF	0,7175	-0,5842	0,2627	-0,1618	0,0636
ASI	-0,2043	0,0480	0,2214	-0,6764	0,3154
PORQ	-0,3363	0,1033	0,1023	-0,4874	-0,4349
PORV	0,1097	0,0325	0,1749	-0,0728	-0,8763

Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas.

La primera componente está principalmente determinada por las variables de altura, tanto de planta como de inserción de la mazorca, las de ciclo a floración masculina y femenina, el peso de 1.000 granos, el diámetro de mazorca y largo de grano. La segunda CP está conformada en mayor medida por las variables longitud de mazorca, ancho de grano, granos por hilera y ciclo a floración. El resto de las variables no intervienen fuertemente en el plano principal.

Las dos primeras CP, que explican un 50,41% de la variabilidad, se representan gráficamente en el plano en la figura 20. En el mismo pueden detectarse ocho grupos de poblaciones. El grupo 1 está integrado por la población ARZM01111 y es la que representa los menores valores para las variables relacionadas al tamaño de mazorca y grano y altura siendo además de ciclo siembra-floración corto. Los grupos 2 y 3 se caracterizan por contener poblaciones de menor altitud de planta e inserción de mazorca, ciclo siembra-floración corto y bajo peso de 1.000 granos. Pueden diferenciarse entre ellos porque el grupo 2 presenta mazorcas largas y de granos anchos mientras que las poblaciones del grupo 3 tienen valores opuestos para esos caracteres. Los grupos 4 y 5 presentan valores medios para las características implicadas en la primer componente principal destacándose el grupo 5 por contener una sola población (ARZM01109) que es la que presenta las mazorcas más largas y con granos más anchos que el resto de las poblaciones evaluadas siendo además de ciclo siembra-floración corto. El grupo 4, por el contrario presenta mazorcas cortas, granos de menor ancho y ciclo a floración largo. Los grupos 6 y 7 son los que presentan plantas más altas, con mayor peso de 1.000 granos y con mazorcas de mayor diámetro. Ambos se diferencian por la segunda componente principal ya que el grupo 6 presenta poblaciones con mazorcas más largas, granos más anchos y menor ciclo que las enmarcadas en el grupo 7. El grupo 8 presenta valores intermedios para todas las variables evaluadas y representa el grupo más numeroso en cuanto a la cantidad de poblaciones que lo integran.

Figura 20: Análisis de Componentes Principales correspondiente al ensayo de referencia que reúne las poblaciones de los ensayos 3, 4, 7 y 9 en una sola experiencia a campo.



Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera P1000: Peso de 1000 granos. ● Amarillo Ocho Hileras, ■ Dentado Blanco, ◆ Pisingallo, ▲ Dulce, ▼ Blanco Ocho Hileras, X Calchaqui, ■ Avati Morotí, * Avati Morotí Ti, ● Avati Morotí Mita, ■ Tusón, ◇ Dentado Amarillo, ▲ Cristalino Colorado, ▼ Cristalino Amarillo Anaranjado, ✕ No clasificable, ■ Testigos.

V-2.2. Metodologías alternativas para la caracterización conjunta de poblaciones

V-2.2.1. Promedio aritmético

Utilizando la metodología del promedio aritmético, los primeros cuatro autovalores fueron los que presentaron un valor superior a 1 y explicaron el 33,26, el 25,11, el 14,53 y el 7,74% de la variabilidad registrada respectivamente. La variabilidad total explicada por estas cuatro componentes es 80,65%.

En la tabla 5 se presentan los coeficientes, cargas o aportes de las cuatro primeras CP, indicando en negrita cuales de ellas contribuyen en mayor proporción en cada una de ellas.

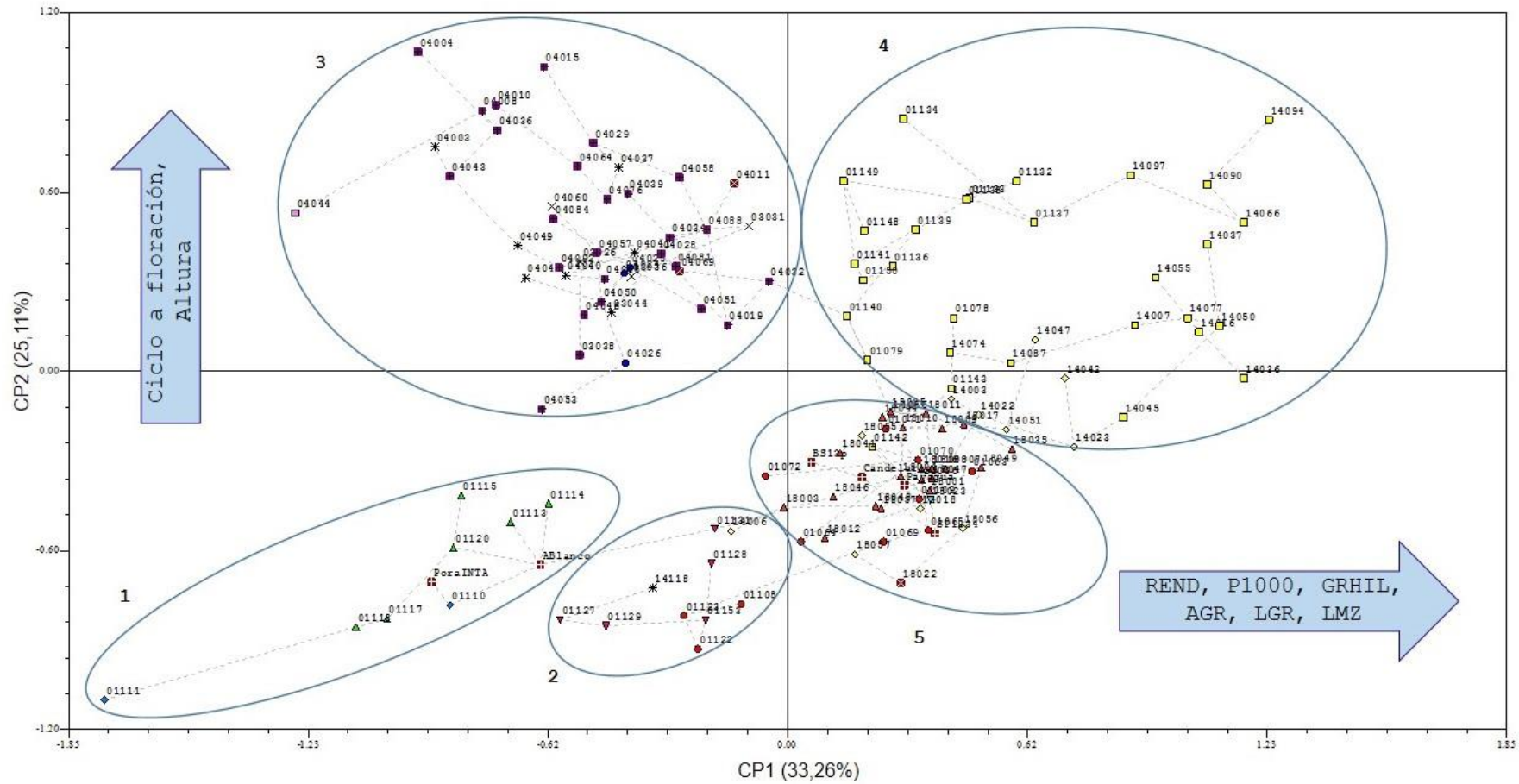
Tabla 5: Autovectores asociados a los cuatro primeros autovalores aplicando la metodología del promedio aritmético.

Variables	CP1	CP2	CP3	CP4
LMZ	0,6798	0,1150	0,4667	0,2719
DMZ	0,5245	0,3599	-0,6301	-0,3337
NHIL	-0,1886	0,1241	-0,9320	-0,0815
AGR	0,6927	0,1393	0,6072	-0,1516
LGR	0,8111	0,1852	-0,3076	-0,2519
GRHIL	0,8473	-0,1742	0,0626	0,1629
PROL	0,0446	-0,2525	-0,2787	0,8209
P1000	0,7772	0,4306	0,2407	-0,0580
REND	0,8295	-0,1650	-0,2871	0,1245
ALTPL	0,5858	0,7184	-0,0820	0,0917
ALTMZ	0,3274	0,8730	-0,0559	0,1059
GDUM	-0,3428	0,8985	0,0145	0,0845
GDUF	-0,4232	0,8819	0,0649	0,0476
ASI	-0,5787	0,4559	0,2438	-0,1219
PORQ	0,0151	-0,4158	0,2432	-0,4346
PORV	-0,5631	0,5050	0,1545	0,0922

Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas

El ACP obtenido se muestra en un gráfico de dos dimensiones (Figura 21) donde se representaron las CP 1 y 2. La primer CP está constituida principalmente por las variables rendimiento, peso de 1.000 granos, granos por hilera, ancho y largo de grano y longitud de mazorca. En la segunda CP, las variables con mayor peso son el ciclo a floración masculina y femenina y la altura de planta e inserción de mazorca. Estas dos primeras componentes explican en conjunto el 58% de la variabilidad detectada en los casos de estudio y permiten diferenciar cinco (5) grupos. Los grupos 1, 2 y 3 presentan valores bajos de rendimiento y todos sus componentes diferenciándose entre ellos porque el grupo 3 presenta los valores intermedios - altos de ciclo siembra floración y altura de planta e inserción de mazorca, el grupo 1 presenta valores bajos para estas variables siendo las poblaciones del grupo 2 las de menores valores registrados para estas características. El grupo 4 tiene plantas altas, ciclo a floración intermedio a largo y son las poblaciones con mayores rendimientos y sus componentes y el grupo 5 muestra valores intermedios para todos los caracteres analizados.

Figura 21: Análisis de Componentes Principales correspondiente a la aplicación de la metodología del promedio aritmético



Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera P1000: Peso de 1000 granos, REND: Rendimiento. ● Amarillo Ocho Hileras, ■ Dentado Blanco, ◆ Pisingallo, ▲ Dulce, ▼ Blanco Ocho Hileras, X Calchaqui, ■ Avati Morotí, * Avati Morotí Ti, ● Avati Morotí Mita, ■ Tusón, ◆ Dentado Amarillo, ▲ Cristalino Colorado, ▼ Cristalino Amarillo Anaranjado, ✕ No clasificable, ■ Testigos.

V-2.2.2. Modelo lineal mixto para la estimación y eliminación de efectos

Sobre los datos ajustados que surgen de estimar y eliminar los efectos de ensayo, ambiente, repetición e interacciones se procedió a la aplicación de técnicas multivariadas (ACP). Los primeros cuatro autovalores presentan valores propios mayores a 1 y explican el 80,21% de la variabilidad. La primera Componente explica el 30,87% de la variabilidad, la segunda el 26,83%, la tercera el 15,81% y la cuarta el 6,69%.

Las cargas de las cuatro primeras CP se muestran en la tabla 6. En negrita se identifican las variables que realizan mayor contribución a cada una de las CP.

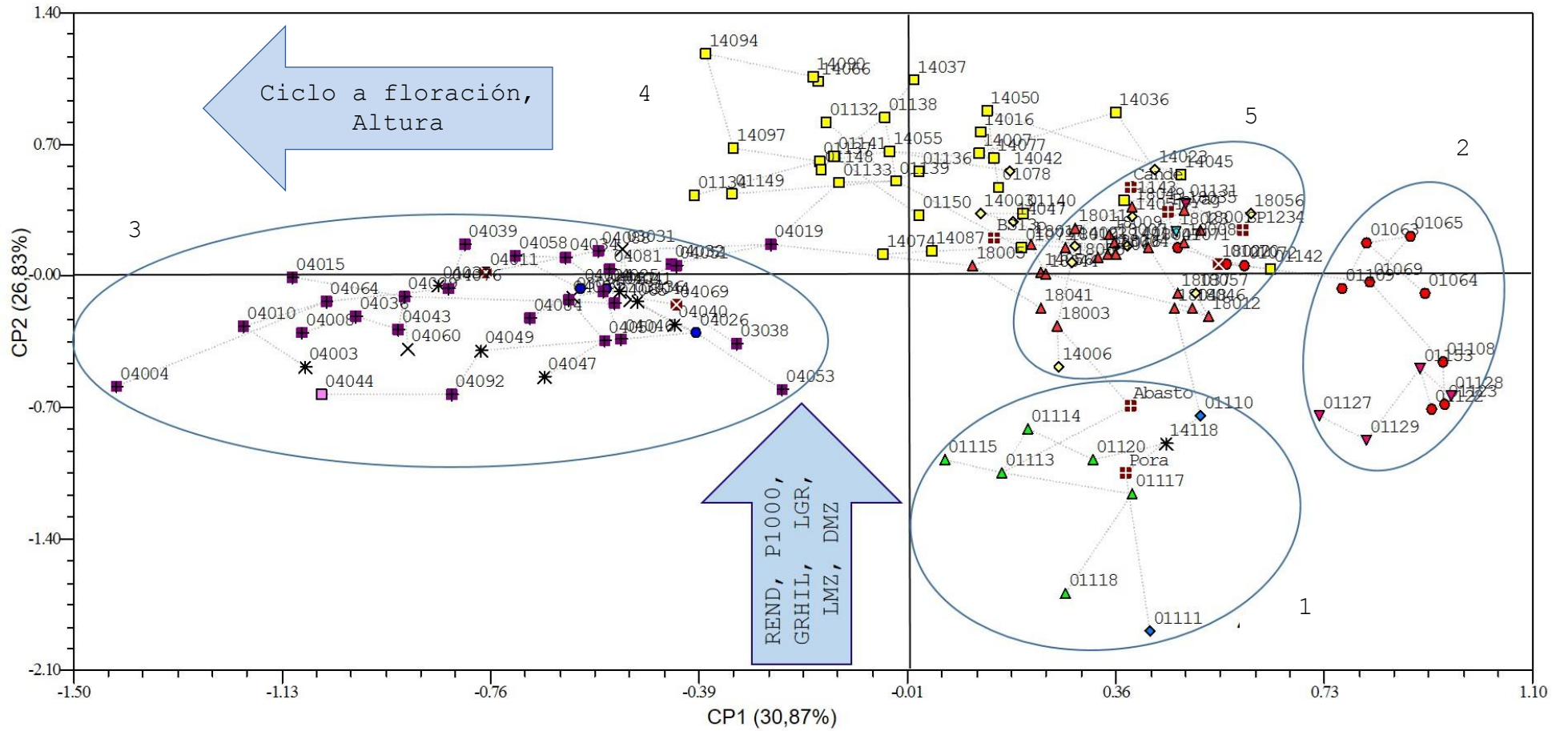
Tabla 6: Autovectores asociados a los cuatro primeros autovalores aplicando la metodología de modelo lineal mixto.

Variabes	CP1	CP2	CP3	CP4
LMZ	0,4114	0,6703	0,4107	0,1213
DMZ	-0,3176	0,5983	-0,5149	-0,4183
NHIL	-0,1763	0,0544	-0,9247	-0,1231
AGR	-0,1405	0,4427	0,7890	-0,1882
LGR	0,0279	0,8574	-0,1648	-0,3062
GRHIL	0,5568	0,6553	0,1121	0,1102
PROL	0,3894	0,2853	-0,4786	0,4927
P1000	-0,1649	0,8065	0,4109	-0,0802
REND	0,4016	0,7712	-0,2710	0,1646
ALTPL	-0,7191	0,5542	-0,1394	0,0638
ALTMZ	-0,7946	0,4992	-0,0934	0,0899
GDUM	-0,9380	0,1076	-0,0152	0,0627
GDUF	-0,9728	0,0302	0,0625	0,0603
ASI	-0,6135	-0,2189	0,2685	0,0242
PORQ	0,3037	-0,3235	-0,0330	-0,6352
PORV	-0,7246	-0,2745	0,0452	0,1551

Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas

La figura 22 muestra el gráfico que surge de las dos primeras CP que explican el 57,71% de la variabilidad total detectada. Las CP1 y 2 están constituidas por las variables de altura y ciclo a floración en el primer caso y rendimiento, peso de 1.000 granos y características de la mazorca en el segundo. En la representación gráfica pueden detectarse en base a su similitud cinco (5) grupos de poblaciones. Los grupos 1, 3 y 5 presentan valores intermedios para rendimiento y las características de mazorca y grano diferenciándose entre ellos por los descriptores relacionados a la primer CP. El grupo 1 posee altura de planta e inserción de espiga intermedia/ baja y los menores valores registrados para rendimiento y caracteres de mazorca y grano. El grupo 3 contiene a las poblaciones de mayor altura y ciclo siembra-floración de todas las evaluadas, el grupo 2 se encuentra en el otro extremo con plantas pequeñas y ciclo a floración más corto y el grupo 5 presenta plantas de ciclo a floración y altura intermedias. El grupo 4 registra valores intermedios para las variables altura y ciclo presentando los mayores valores para rendimiento y sus componentes.

Figura 22: Análisis de Componentes Principales correspondiente a la aplicación de la metodología del modelo lineal mixto



Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera P1000: Peso de 1000 granos, REND: Rendimiento. ● Amarillo Ocho Hileras, ■ Dentado Blanco, ◆ Pisingallo, ▲ Dulce, ▼ Blanco Ocho Hileras, X Calchaqui, ■ Avati Morotí, * Avati Morotí Ti, ● Avati Morotí Mita, ■ Tusón, ◆ Dentado Amarillo, ▲ Cristalino Colorado, ▼ Cristalino Amarillo Anaranjado, ✕ No clasificable, ■ Testigos.

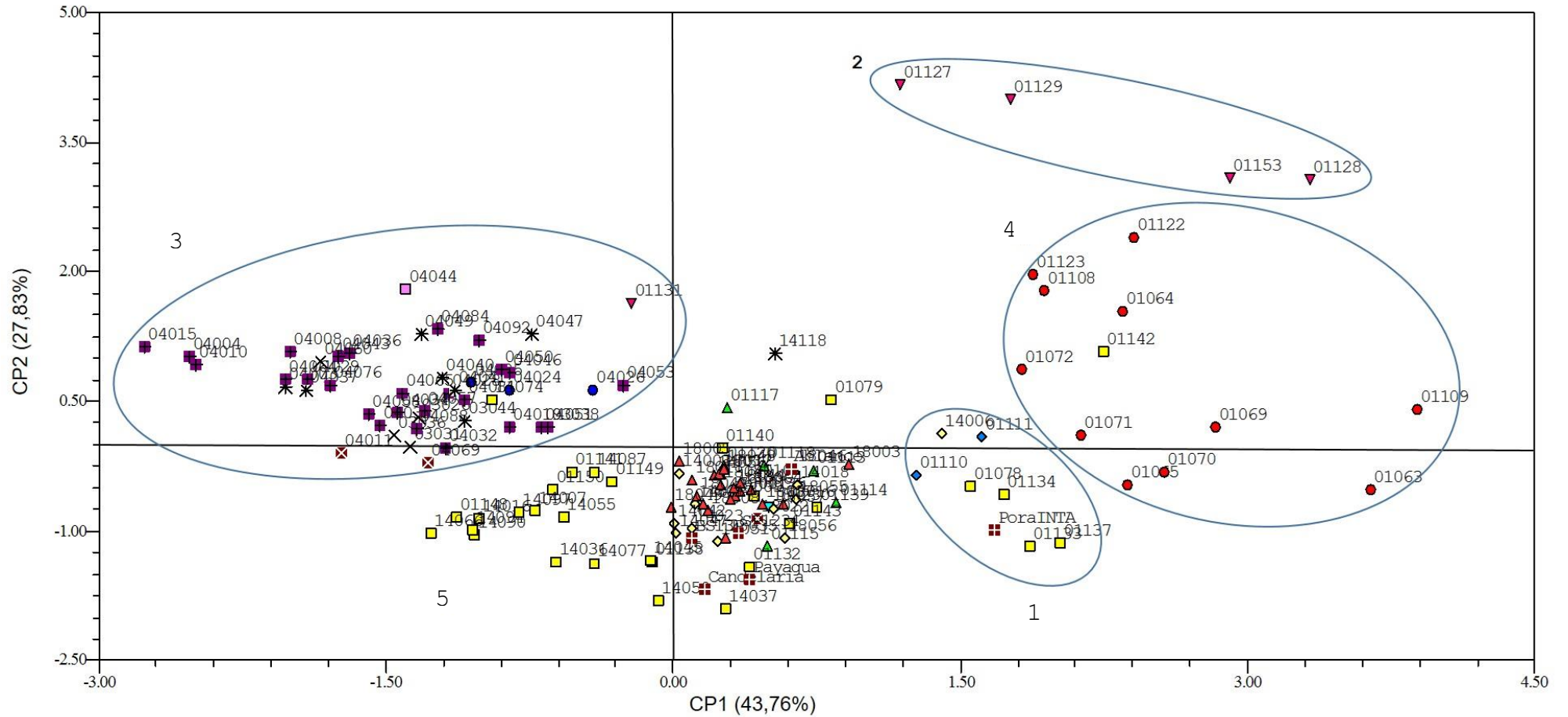
V-2.2.3. Análisis multivariado de tres modos

Aplicando esta metodología, los primeros cuatro autovalores explican el 100% de la variabilidad total encontrada en las poblaciones y ambientes bajo estudio. La primera CP explica el 43,72% de la variabilidad encontrada, la segunda explica el 27,83%, la tercera el 21,15% y la cuarta el 7,30%.

El algoritmo utilizado retiene tantas CP como testigos comunes se presenten en los ensayos (Lavalle, 2016). En este caso, al contar con cuatro testigos o poblaciones comunes, se retuvieron 4 CP que explican el 100% de la variabilidad. Por este motivo, los porcentajes de variabilidad detectada con esta metodología no pueden compararse con los obtenidos con los demás análisis aplicados.

Las primeras dos componentes explican el 71,55% de la variabilidad y en la representación gráfica del mismo (Figura 23) se puede observar la formación de cinco (5) grupos, En este caso, no es posible describir los grupos en función de las variables que los diferencian.

Figura 23: Análisis de Componentes Principales correspondiente a la aplicación de la metodología de Análisis de Procrustes Generalizado a tres vías



Referencias: ● Amarillo Ocho Hileras, ■ Dentado Blanco, ◆ Pisingallo, ▲ Dulce, ▼ Blanco Ocho Hileras, X Calchaqui, ■ Avati Morotí, * Avati Morotí Ti, ● Avati Morotí Mita, ■ Tusón, ◆ Dentado Amarillo, ▲ Cristalino Colorado, ▼ Cristalino Amarillo Anaranjado, X No clasificable, ■ Testigos.

V-2.3. Comparación de metodologías

Para evaluar la relación entre las configuraciones resultantes de las tres propuestas de análisis y el ensayo de referencia se recurrió a la correlación entre las matrices de distancias euclídeas entre poblaciones obtenidas en cada una de las metodologías y se aplicó el test de Mantel para concluir acerca de su significancia. Los resultados se muestran en la tabla 7.

Tabla 7: Correlación entre las matrices de distancia euclídea entre poblaciones obtenidas en cada una de las metodologías

	Promedios entre ambientes	Eliminación efectos	APG a tres modos	Ensayo de referencia
Promedios entre ambientes	1	**	**	**
Eliminación efectos	0,90272	1	**	**
APG a tres modos	0,42735	0,56686	1	**
Ensayo de referencia	0,76356	0,77483	0,47628	1

V-3. DISCUSIÓN

Al estudiar poblaciones locales conservadas en un Banco de Germoplasma, es prácticamente imposible evaluar la elevada cantidad de entradas disponibles en una sola campaña agrícola, por lo cual las mismas se agrupan por razas y características agronómicas semejantes dentro de distintos ensayos (Castillo González y Goodman, 1989; Gouesnard *et al.*, 1997 y Taba *et al.*, 1998; Salhuana *et al.*, 1998). Además, los caracteres cuantitativos registrados, fundamentalmente aquellos de interés para el uso de las poblaciones, pueden ser influenciadas por el ambiente y presentar interacción con los genotipos (López Harburu, 2014; Dhungana *et al.*, 2007; Ungerer *et al.*, 2003).

Para salvar estos inconvenientes, debe buscarse una alternativa de análisis que permita concatenar las poblaciones evaluadas en distintos ensayos y ambientes y de esta forma, analizar conjuntamente las poblaciones de interés. Para ello existen diversas alternativas entre las cuales podemos mencionar el uso del promedio, análisis univariados utilizando modelos mixtos para la estimación y eliminación de efectos contemplados en el diseño, y métodos de análisis multivariados a tres modos. Estas últimas dos alternativas necesitan que todos los ensayos cuenten con poblaciones comunes que actuarían como individuos de referencia sobre los que se ubican en forma relativa las poblaciones no comunes. Es de fundamental importancia evaluar en forma comparativa las distintas técnicas disponibles para poder seleccionar aquélla que mejor agrupe a las poblaciones en base a sus semejanzas. Una alternativa para cuantificar la relación es aplicar el test de Mantel que permite evaluar la significancia de las correlaciones surgidas de la comparación de diferentes matrices de distancias. Zuliani (2012) comparó, utilizando el test de Mantel, la concordancia entre las configuraciones obtenidas después de aplicar las técnicas de Análisis Factorial Múltiple, Análisis de Procrustes Generalizado y Análisis de Componentes Principales. La autora encontró que las tres técnicas mostraron una alta concordancia en la caracterización de 31 poblaciones locales de maíz en los ambientes considerados.

En el presente trabajo, al comparar la significancia entre las matrices de distancias euclídeas obtenidas a partir del ensayo de referencia con la calculada en cada una de las metodologías utilizadas, se puede observar que las mayores correlaciones se dan con las metodologías del promedio aritmético ($r = 0,76$) y análisis univariado aplicando modelos mixtos para la estimación y eliminación de efectos ($r = 0,78$). La menor correlación se observa entre la matriz de distancia del ensayo de referencia con la metodología de APG a tres modos ($r = 0,48$). Estos resultados se refuerzan por la elevada correlación que presentan el método de los promedios con la técnica de análisis univariado de modelos

mixtos para la estimación y eliminación de efectos ($r = 0,90$) y la baja correlación de la metodología del APG a tres modos con las dos anteriores ($r = 0,43$ y $r = 0,57$, respectivamente).

La aplicación del APG supone que la totalidad de los objetos fue medida en la totalidad de las condiciones. En este trabajo se presenta una alternativa propuesta por Lavalle (2016) donde se desarrolló un algoritmo que permite obtener la estructura consenso cuando las matrices de partida no están completas pero están conectadas a partir de un grupo de poblaciones comunes (testigos) a todas las condiciones (ambientes). Esta modificación del APG utiliza la información de las poblaciones comunes a todas las matrices para realizar el centrado y hallar las sucesivas matrices de rotación y factores de escala. Las poblaciones propias evaluadas en cada ambiente son consideradas como suplementarias, y son centradas, escaladas y rotadas de manera de conservar sus posiciones relativas dentro de cada matriz. Este algoritmo requiere el cumplimiento de dos supuestos. Por un lado, las poblaciones comunes deben conformar grupos que presenten diferencias significativas en las variables originales consideradas; y por otro lado, estos grupos deben permanecer estables a lo largo de las condiciones. Lavalle, (2016) verificó estos supuestos para los datos de este trabajo determinando que las poblaciones utilizadas como testigo no difieren significativamente entre sí, sugiriendo ampliar el número de poblaciones comunes en los ensayos y que las mismas presenten mayores diferencias entre ellas.

Dado que los testigos actúan como centro de gravedad de las poblaciones particulares de cada ensayo que son similares a ellas, es decir, son el referente geométrico para los sucesivos pasos de la técnica APG, si como en este caso, tienen un comportamiento similar, es decir, forman un único grupo aleatorio entre ellas, no se pueden utilizar como vínculo para establecer similitudes entre las poblaciones no comunes. Esto refuerza la sugerencia planteada por Lavalle (2016) determinando que en ensayos futuros se sumen más cantidad de testigos diferentes entre sí.

Al utilizar la metodología del promedio aritmético se enmascararían los efectos de ensayo, bloque, ambiente y todas las interacciones, no considerándose en forma individual. Más allá de que no se explotan estos efectos, muchos autores lo utilizan ya que es un método sencillo y de muy fácil aplicación. Gouesnard *et al.* (1997), utilizando el promedio a través de los ambientes clasificaron 262 entradas de maíz originarias de Francia. Ilarslan *et al.* (2002) con la misma metodología agruparon en base a su similitud 32 entradas de germoplasma de maíz de Turquía. En 2003, Franco *et al.*, evaluaron 211 líneas de maíz en ocho ambientes, utilizando el promedio de las variables cuantitativas continuas para su análisis.

Por otro lado, otros autores reconocen la importancia de los diferentes efectos en sus estudios. Taba *et al.* (1998) evaluaron 498 poblaciones locales de maíz en dos ensayos experimentales cada uno llevado a cabo en dos ambientes diferentes. Para realizar los análisis utilizaron un modelo mixto que permitió estimar y eliminar los efectos de ensayo, ambiente, repetición y bloque incompleto. De esta manera, el cálculo de las medias ajustadas permitió evaluar ambos ensayos en forma conjunta. Defacio (2009) utilizando un modelo mixto propuesto por Rebb *et al.* (2007) analizó 145 poblaciones locales de maíz originarias de la provincia de Buenos Aires evaluadas experimentalmente en cuatro ensayos, cada uno desarrollado en ambientes diferentes. Este modelo, a diferencia del utilizado por Taba *et al.* (1998), permite cuantificar y eliminar el efecto de las distintas interacciones presentes ascendiendo la variabilidad explicada exclusivamente por el genotipo. Este tipo de modelos exige que los diferentes ensayos a evaluar presenten testigos comunes.

Aplicando modelos de análisis como los mencionados anteriormente a cada variable en forma individual, se pierde la naturaleza multivariada de la información, sin considerarse la interrelación entre las variables. Cuando más de un carácter es medido sobre los genotipos en ensayos multi-ambientales, los datos pueden resumirse bajo la forma de genotipo x ambiente x variable (de la Vega *et al.*, 2001). En este caso, un modelo de análisis multiplicativo de tres modos es una estrategia que puede utilizarse para modelar simultáneamente la interacción genotipo - ambiente en más de un carácter (de la Vega *et al.*, 2001) como también puede resultar una técnica poderosa para estudiar la respuesta genotípica de multi-variables a través de los ambientes (Chapman *et al.*, 1997). En este tipo de análisis de tres modos, el primer modo corresponde a los genotipos en estudio, el segundo a las variables que se evalúan y el tercero a los ensayos o condiciones en las que se tomaron los registros. La ventaja del análisis de tres modos es que describe la relación entre unidades, no únicamente dentro de los modos sino entre los modos (Chapman *et al.*, 1997), además, ningún modo es excluido del análisis (Crossa *et al.*, 1995).

Los métodos de datos de tres modos se dividen en datos de tres vías y datos de conjunto múltiples. En el primer caso existe un sólo conjunto de poblaciones o individuos donde se registran las mismas variables en las mismas condiciones o ambiente y los tres modos se encuentran totalmente cruzados. En los datos de conjuntos múltiples puede suceder que: i) en cada ambiente se registran las mismas variables a diferentes grupos de poblaciones o individuos; o ii) en cada ambiente se miden diferentes variables a las mismas poblaciones o individuos (Marticorena, tesis de maestría en elaboración). Utilizando Análisis de Componentes Principales a tres modos Kroonenberg y Basford (1989) analizaron 58

líneas de soja a través de cuatro localidades, Basford *et al.* (1990) clasificaron 25 líneas de algodón evaluadas en nueve ambientes por el rendimiento y calidad de la fibra producida, y Rincon *et al.* (1997) analizaron 184 poblaciones locales del Caribe evaluadas en cuatro ambientes. Más recientemente, Ortiz *et al.* (2008) evaluaron 50 poblaciones locales de maíz peruanas a través de dos ambientes y Marticorena *et al.* (2010) clasificaron 31 poblaciones locales de maíz argentinas en dos ambientes de evaluación.

En la aplicación de las diferentes metodologías pueden observarse similitudes y diferencias.

Los ACP se realizaron como paso final de las distintas metodologías en base a la matriz de correlaciones. Las cuatro primeras CP explicaron desde el 74 al 100% de la variabilidad registrada variando según la metodología aplicada. El ensayo utilizado para comparar las metodologías es el que menor proporción de la variabilidad explica (74%) siendo el análisis multivariado a tres modos la metodología que explica el 100% de la variabilidad, si bien como se dijo, este valor no es comparable dado que la dimensión del sistema queda definida por el número de testigos comunes, en este caso, cuatro. Con valores de 80,21% y 80,65% de explicación de la variabilidad se encuentran el análisis univariado para estimación y eliminación de ambientes y el método de promedios aritméticos, respectivamente. Alike *et al.*, (1993) con los cinco primeros CP explican el 64% de la variabilidad registrada al evaluar 30 poblaciones locales de maíz nigerianas; Gouesnard *et al.* (1997) con los cuatro primeros CP capturaron el 77% de la variación total detectada en 262 poblaciones locales de maíz francesas; Brandolini y Brandolini (2001) explicaron con las seis primeras CP el 82% de la variación entre 562 poblaciones locales de maíz italianas; y Harada *et al.*, (2009) con los primeros cuatro CP encontraron el 75,2% de la variación total al evaluar 105 entradas de poblaciones locales de Japón.

Las poblaciones se graficaron sobre un plano utilizando, en todos los casos, las dos primeras CP. Ellas explican entre el 50,4% de la variabilidad en el ensayo de referencia, el 57,71% en la metodología del promedio aritmético y el 58% al usar los modelos mixtos. Evaluando poblaciones locales de maíz de diferentes partes del mundo y utilizando las dos primeras CP Alike *et al.* (1993) explican un 40,3% de la variabilidad, Brandolini y Barandolini (2001) detectaron el 52% de la variación total y Defacio (2009) detectó el 53,1% de la variabilidad.

Con la aplicación de las diferentes estrategias metodológicas utilizadas, las variables que tienen más peso en estas dos primeras CP son el ciclo siembra-floración, los caracteres de altura, peso de 1.000 granos y rendimiento. También son importantes algunas variables relacionadas con la mazorca y el grano como ancho y largo de grano, longitud de mazorca y

granos por hilera. Lucchin *et al.* (2003) encontraron que el primer componente está fuertemente asociado con la dispersión del polen, la altura de inserción de mazorca y el rendimiento y Brandolini y Brandolini (2001) indican que la primer CP se encuentra asociada a los caracteres vegetativos y de ciclo mientras que la segunda CP se relaciona con las características de grano. Gouesnard *et al.* (1997) y Alfaro y Segovia (2000) determinaron que las primeras dos CP están relacionadas con las variables asociadas con la altura y el ciclo a floración. Alike *et al.* (1993) mencionan que los caracteres vegetativos son los caracteres que más discriminan sobre la primer CP, mientras que rendimiento y sus componentes, actúan fuertemente sobre la segunda CP. Rincon *et al.* (1997) detectaron que la primer CP está principalmente constituida por las variables altura de planta y días a antesis, y la segunda CP está asociada con días a antesis, rendimiento y altura de planta.

En el análisis del ensayo de referencia, utilizado para la comparación de las metodologías, pueden detectarse ocho (8) grupos que fueron descriptos oportunamente mientras que para cada una de las metodologías aplicadas para agrupar los ensayos pueden formarse cinco (5) grupos en cada caso con características similares.

Grupo 1: Agrupa a todas aquellas poblaciones que pertenecen a las razas Dulce y Pisingallo cuyas características son las de presentar plantas pequeñas, de ciclo siembra-floración corto y bajos valores de rendimiento y sus componentes. En este grupo también se encuentran las poblaciones sintéticas PoraINTA y Abasto Blanco que pertenecen a estas formas raciales. La única diferencia que se encuentra es que aplicando la metodología de APG a tres modos, las poblaciones pertenecientes a la raza Dulce no se agrupan con los Pisingallos en el grupo 1.

Grupo 2: Corresponde a aquellas poblaciones que racialmente se clasifican como Amarillo Ocho Hileras y Blanco Ocho Hileras. Las características de estas razas son presentar plantas pequeñas, de rendimiento medio y mazorcas largas con bajo número de hileras de granos en la misma.

Grupo 3: en este grupo se encuentran las poblaciones identificadas como Avatí (Avatí Morotí, Avatí Morotí Ti, Avatí Morotí Mita) y Calchaquí. Las mismas presentan ciclo siembra floración largo y son altas con rendimientos medios a bajos.

Grupo 4: Reúne a las poblaciones pertenecientes a la raza Dentado Blanco. De todas las poblaciones evaluadas son las que presentan mayores valores para todas las características registradas. Aplicando la metodología de APG a tres modos, este grupo está representado por las poblaciones correspondientes a la forma racial Amarillo Ocho Hileras.

Grupo 5: Posee valores medios para todas las características evaluadas. En este grupo se ubican los testigos y todas las poblaciones pertenecientes a las razas Cristalino

Colorado, Cristalino Amarillo y Dentado Amarillo. Al aplicar la técnica de APG a tres modos, en este grupo se ubican las poblaciones de la raza Dulce y Dentado Blanco.

Utilizando la metodología de ACP, diversos autores clasificaron a nivel mundial poblaciones locales de maíz. Gouesnard *et al.* (1997) determinó al evaluar 262 poblaciones francesas la presencia de cinco grupos, Pinheiro de Carvalho *et al.* (2008) formaron cuatro grupos al evaluar 43 poblaciones originarias del Archipiélago de Madeira, Portugal; y Defacio (2009) diferenció cinco grupos al estudiar 145 poblaciones colectadas en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Con la técnica de ACP a tres modos Rincon *et al.* (1997) encontraron cinco grupos al evaluar 184 poblaciones locales del Caribe y Crossa *et al.* (1995) formaron cinco grupos a partir de la evaluación de 156 poblaciones de la raza Cónico y tres grupos partiendo de 175 entradas de la raza Tuxpeño, ambas de origen mexicano.

Independientemente de las semejanzas y diferencias detalladas entre las diversas metodologías, para las poblaciones estudiadas y los ambientes en que se evaluaron, el uso del promedio puede utilizarse para agrupar poblaciones en base a sus semejanzas y diferencias. Esta metodología, si bien es más rudimentario desde el punto de vista estadístico, es muy sencillo de aplicar y ampliamente utilizado por los investigadores. A pesar de ello no pueden diferenciarse los efectos del ambiente y sus interacciones las cuales son muy importantes desde el punto de vista genético, pero no se requieren para una caracterización 'media' de las poblaciones. Sería interesante aplicar las distintas metodologías en ambientes más contrastantes y con material genético uniforme, como líneas o híbridos simples, donde probablemente se manifieste una mejor performance de las técnicas más sofisticadas.

Por otro lado, debido a la implementación de la técnica APG a tres modos en el presente trabajo y la falta de concordancia con las otras metodologías aplicadas, permitió determinar el no cumplimiento de uno de los supuestos de la técnica. En la propuesta metodológica, las poblaciones testigo cumplen un rol fundamental ya que son el referente geométrico para las sucesivas rotaciones (Lavalle, 2016). Por lo tanto, es de fundamental importancia que las poblaciones comunes o testigos se diferencien unas de otras y así, poder determinar qué grupo de poblaciones se asemejan más a cada una. Al tener un comportamiento similar, no podrán determinarse los mencionados agrupamientos. Para salvar esta situación sería conveniente que se incluyan como testigos poblaciones que correspondan a diferentes formas raciales y que manifiesten diferencias fenotípicas entre ellas.

CAPÍTULO VI- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL EVALUADO EN EL BAP

VI-1. MATERIALES Y MÉTODOS

VI-1.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada

Como se analizó en el “capítulo V, Integración de información proveniente de diferentes ensayos de caracterización”, la metodología seleccionada para el análisis conjunto de las poblaciones evaluadas en los diferentes ensayos y ambientes, fue la del promedio aritmético. Por lo mencionado, se utilizaron los valores medios a través de las repeticiones concatenando los distintos ensayos obteniéndose una matriz de datos de 510 poblaciones y 16 variables. Se realizó estandarización por media y desvío estándar y se aplicó la técnica de ACP a partir de la matriz de correlaciones. Los resultados obtenidos se muestran en un gráfico de dos dimensiones donde se consideran las dos primeras Componentes Principales (CP).

VI-1.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos

Los caracteres cualitativos multiestado de las 510 poblaciones locales evaluadas fueron analizados mediante la técnica de Análisis de Coordenadas Principales (ACooP). Dicha metodología se basó en la matriz de similaridad obtenida mediante la extensión del coeficiente de emparejamiento simple (Simple Matching) sobre los valores codificados como fue indicado en el apartado “III-3., Variables evaluadas”. Los resultados de este análisis se muestran en un gráfico bidimensional donde se consideran las dos primeras Coordenadas Principales (CooP).

VI-1.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta

Las evaluaciones realizadas con datos de caracteres cuantitativos y cualitativos son igualmente importantes realizando un aporte fundamental para la caracterización de poblaciones locales de maíz. Para corroborar lo mencionado se realizaron las siguientes comparaciones:

- a) Concordancia entre las configuraciones: para este análisis se retienen las dos primeras coordenadas del ACooP y las dos primeras componentes del ACP y se calculó la distancia euclídea por individuo.

- b) Relación mediante el test de Mantel entre la matriz de distancia euclídea de los datos cuantitativos estandarizados y la matriz de similitud de los datos cualitativos. Con este análisis se cuantifica la relación entre las caracterizaciones basadas en los datos cualitativos y cuantitativos sin considerar la pérdida de información que se genera por aplicar los diferentes tipos de análisis, en este caso, ACP y ACooP, respectivamente.

Dado que ambos tipos de caracteres agrupan a las poblaciones en forma distinta, es decir, originan configuraciones diferenciadas, se estaría indicando de algún modo que las caracterizaciones cualitativa y cuantitativa brindan información complementaria. Por lo tanto una técnica que aglutine ambos tipos de datos sin perder información brindaría una caracterización detallada y más completa de las poblaciones en estudio. El consenso entre ambos tipos de variables se obtuvo aplicando el Análisis de Procrustes Generalizado (APG). El mismo se basó en las matrices de las coordenadas obtenidas a través de los análisis de ACP y ACooP. A partir de dichas coordenadas se calculó la matriz de consenso y la de dispersión de los dos tipos de datos respecto a éste. La representación gráfica se realizó en el plano con dos ejes. En la misma se observaron los valores de dispersión de los datos cuantitativos y cualitativos de cada población, unidas a su respectivo valor consenso por vectores.

Posteriormente, con el objetivo de cuantificar la concordancia entre la caracterización cuantitativa y cualitativa para cada población, se calculó la distancia euclídea entre puntos análogos, es decir la misma población caracterizada por ambos tipos de variables.

VI-1.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas

Para cuantificar la significancia de la relación entre las distancias genéticas (euclídeas) y la matriz de distancias geográficas entre las poblaciones se utilizó el test de Mantel. La matriz de distancias geográficas surgió de calcular la distancia lineal entre las localidades en las que se colectaron cada una de las poblaciones. La matriz de distancias genéticas (distancia euclídea) se calculó a partir de la matriz de consenso que se obtuvo aplicando la metodología del APG. Ambas matrices se compararon obteniendo el coeficiente de correlación y su significancia lo cual nos indica cuán relacionadas están. Para tener una estimación de la relación entre el origen geográfico de las poblaciones y su variabilidad genética se eliminaron en ambas matrices los datos de las poblaciones testigo. Las mismas corresponden a materiales con cierto grado de mejoramiento no teniendo datos de

pasaporte, sino del lugar físico donde se realizó el mejoramiento. Dada esta aclaración, se trabajó con 510 poblaciones locales.

VI-2. RESULTADOS

VI-2.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada

El ACP se aplicó utilizando el promedio de los datos a través de las repeticiones y ambientes. Las primeras cinco Componentes Principales (CP) son las que presentan un valor propio mayor a 1. Ellas explican el 81,64% de la variabilidad total registrada para las poblaciones y variables evaluadas. La primera CP explica el 33,52% de dicha variabilidad y está constituida principalmente por las variables rendimiento en forma positiva y en forma negativa por tiempo térmico a floración, altura de planta y de inserción de mazorca y asincronía floral. La segunda CP contribuye con un 23,91% y las variables que más influyen en la misma son el peso de 1.000 granos, ancho y largo de grano, diámetro y longitud de mazorca y altura de planta e inserción de la espiga superior, todas en forma positiva. La tercera CP explica el 10,37% de la variabilidad y se encuentra conformada por las variables número de hileras de la mazorca y diámetro de mazorca, ambas con carga o aporte negativo. La cuarta CP explica el 7,55% de la variabilidad encontrada y la quinta el 6,57%, estando constituidas por las variables diámetro de mazorca y porcentaje de quebrado en el primer caso, y por prolificidad y porcentaje de vuelco en el segundo. Las variables de mayor contribución en la cuarta y quinta CP lo hacen con cargas negativas. La constitución de cada una de las primeras cinco CP, con su respectivo valor y carga o aporte se muestran en la tabla 8.

Tabla 8: Autovectores, valores propios, proporción explicada por cada CP y proporción acumulada de las cinco primeras CP. En negrita se remarcan los valores más importantes que constituyen cada una de las CP.

Variables	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
LMZ	0,4794	0,5854	0,1654	0,3524	0,0696
DMZ	0,1503	0,6453	-0,5638	-0,4137	-0,0313
NHIL	-0,4455	-0,2065	-0,7784	-0,1859	0,1800
AGR	0,4630	0,7392	0,3191	-0,0738	-0,1498
LGR	-0,0183	0,8172	-0,3491	-0,1836	0,0538
GRHIL	0,6533	0,3538	-0,0726	0,3204	0,2514
PROL	0,3784	-0,4614	-0,2586	0,3371	-0,5363
P1000	0,4116	0,8110	0,1269	-0,0953	-0,1842
REND	0,8093	0,1500	-0,3472	0,1298	-0,0929
ALTPL	-0,5416	0,6033	-0,0498	0,3395	0,1100
ALTMZ	-0,7357	0,5074	-0,0739	0,2836	0,0154
GDUM	-0,9246	0,1835	0,0457	0,1298	-0,0681
GDUF	-0,9323	0,1977	0,0929	0,0849	-0,0453
ASI	-0,6700	0,2130	0,2938	-0,1791	0,1064
PORQ	0,4631	-0,1203	0,3740	-0,4371	0,3716
PORV	-0,2867	0,1954	0,1756	-0,3931	-0,6156
Valores propios	5,36	3,83	1,66	1,21	1
Porcentaje explicado	33,53	23,91	10,37	7,55	6,28
Porcentaje acumulado	33,53	57,44	67,81	75,37	81,64

Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; NHIL: Número de hileras; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; PROL: Prolificidad; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento; ALTPL: Altura de planta; ALTMZ: Altura de inserción de la mazorca superior; GDUM: Tiempo térmico a floración masculina; GDUF: Tiempo térmico a floración femenina; ASI: Sincronía entre floración masculina y femenina; PORQ: Porcentaje de plantas quebradas; PORV: Porcentaje de plantas volcadas

Las primeras dos CP explican en conjunto el 57,44% de la variabilidad registrada y se muestran en un gráfico en el plano (Figura 24). En el mismo pueden visualizarse seis grupos que se describen a continuación:

Grupo 1: se caracteriza por presentar bajo rendimiento, ciclo a floración largo, con mazorcas y granos intermedios a grandes y plantas de mayor altura total y de inserción de la espiga superior.

Grupo 2: constituido por poblaciones de rendimiento bajo, ciclo a floración largo, con plantas bajas y mazorcas y granos pequeños, con bajo peso de 1.000 granos.

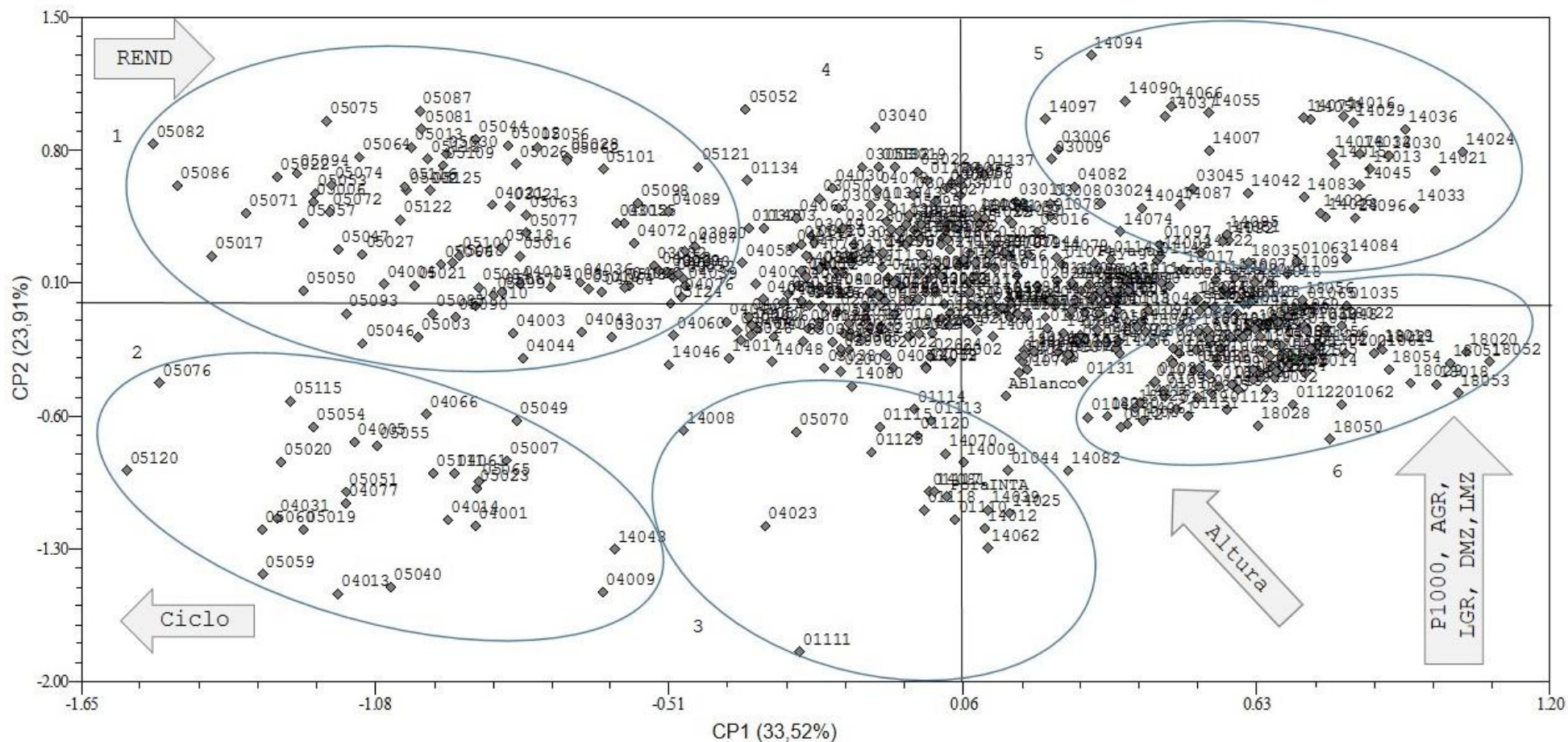
Grupo 3: presentan valores intermedios de rendimiento y ciclo a floración, y valores bajos de caracteres de mazorca y grano y de altura de planta.

Grupo 4: representado por las poblaciones que registran valores intermedios para todas las variables evaluadas.

Grupo 5: caracterizado por altos rendimientos, ciclo a floración corto, mazorcas largas y de mayor diámetro, granos anchos y largos y peso de 1.000 granos elevados. Además, son poblaciones con plantas altas.

Grupo 6: formado por poblaciones de elevado rendimiento y ciclo a floración corto, con valores intermedios de altura y características de mazorca y grano.

Figura 24: Análisis de Componentes Principales correspondiente a la aplicación de la metodología del promedio aritmético sobre los caracteres cuantitativos de 510 poblaciones locales.



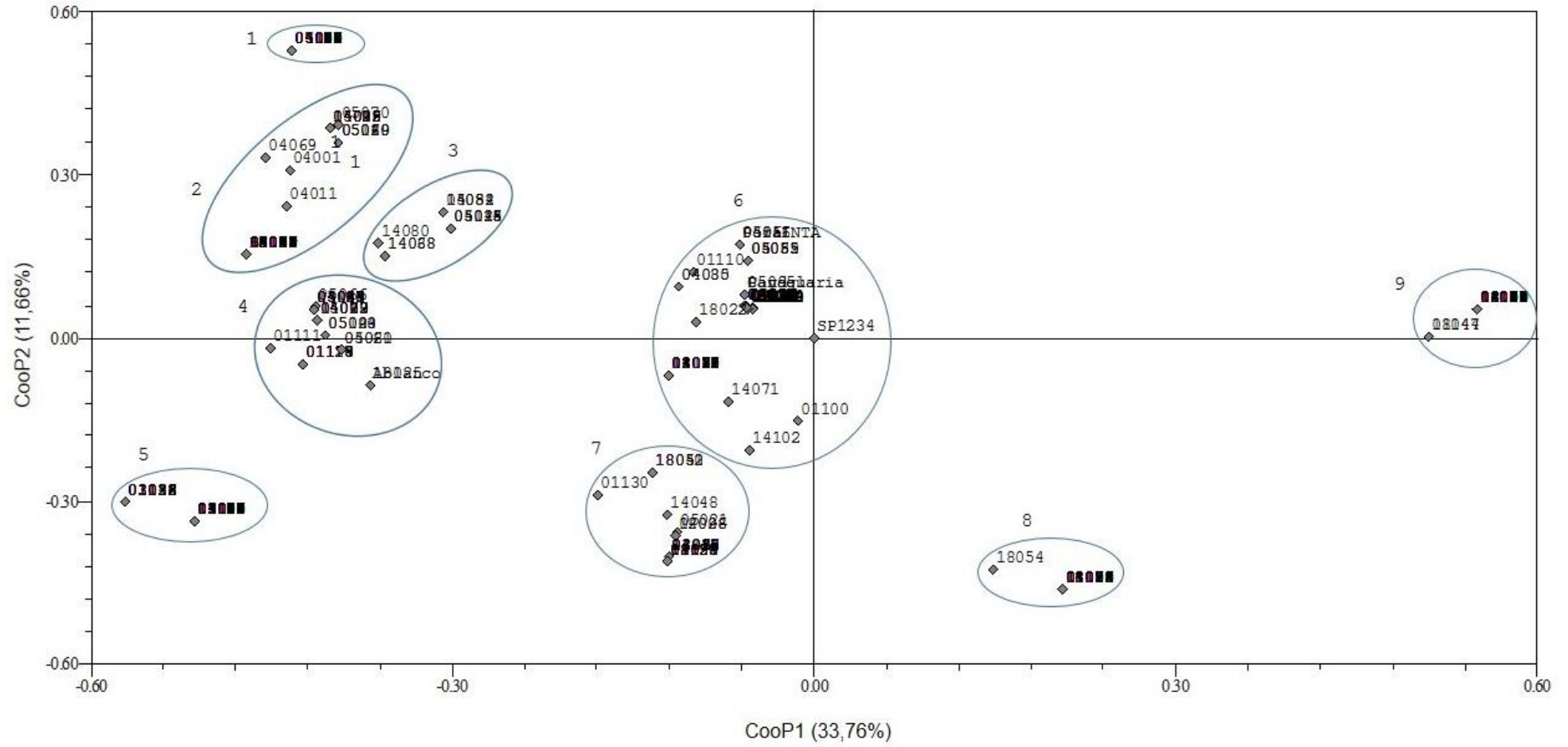
Referencias: LMZ: Longitud de mazorca; DMZ: Diámetro de mazorca; AGR: Ancho de grano; LGR: Largo de grano; GRHIL: Granos por hilera; P1000: Peso de 1000 granos; REND: Rendimiento

VI-2.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos

Las 510 poblaciones evaluadas mediante sus caracteres cualitativos fueron clasificadas utilizando la técnica de Análisis de Coordenadas Principales. La misma se basó en la matriz de similaridad obtenida a través de la extensión de la técnica de emparejamiento simple. La primera coordenada explica el 33,76% de la variabilidad registrada, la segunda lo hace con un 11,66% y la tercera y la cuarta con un 9,20% cada una. Los resultados obtenidos se muestran graficando en el plano las dos primeras Coordenadas Principales que explican en conjunto el 45,41% de la variabilidad total registrada en las poblaciones en estudio y en los ambientes de evaluación.

Con dicha metodología pueden observarse 9 grupos los cuales se encuentran marcados sobre la figura 25.

Figura 25: Análisis de Coordenadas Principales aplicadas sobre los caracteres cualitativos de 510 poblaciones locales.



VI-2.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta

Para analizar la concordancia entre el análisis de Componentes Principales y el de Coordenadas Principales se aplicó el test de Mantel obteniendo una correlación $r = 0,211$ ($p = 1$). Además, la correlación entre las matrices de similaridad y distancia de los datos cualitativos y cuantitativos respectivamente, arrojaron un valor $r = 0,214$ ($p < 0,0001$). Las mencionadas correlaciones indican que existen diferencias significativas en las formas en que ambos tipos de variables agrupan a las poblaciones evaluadas.

Por dicho motivo se utilizó la técnica del APG que permite obtener una configuración consenso sin pérdida de información. Los resultados obtenidos de los valores consenso se muestran en la figura 26 en el cual pueden diferenciarse 6 grupos de poblaciones.

La dispersión de cada tipo de dato respecto al consenso se representa en el plano en la figura 27, en la cual cada punto consenso se une por vectores a los dos tipos de datos (cuantitativos y cualitativos).

Figura 26: Análisis de Procrustes Generalizado. Valores consenso a partir de las variables cuanti y cualitativas sobre 510 poblaciones locales

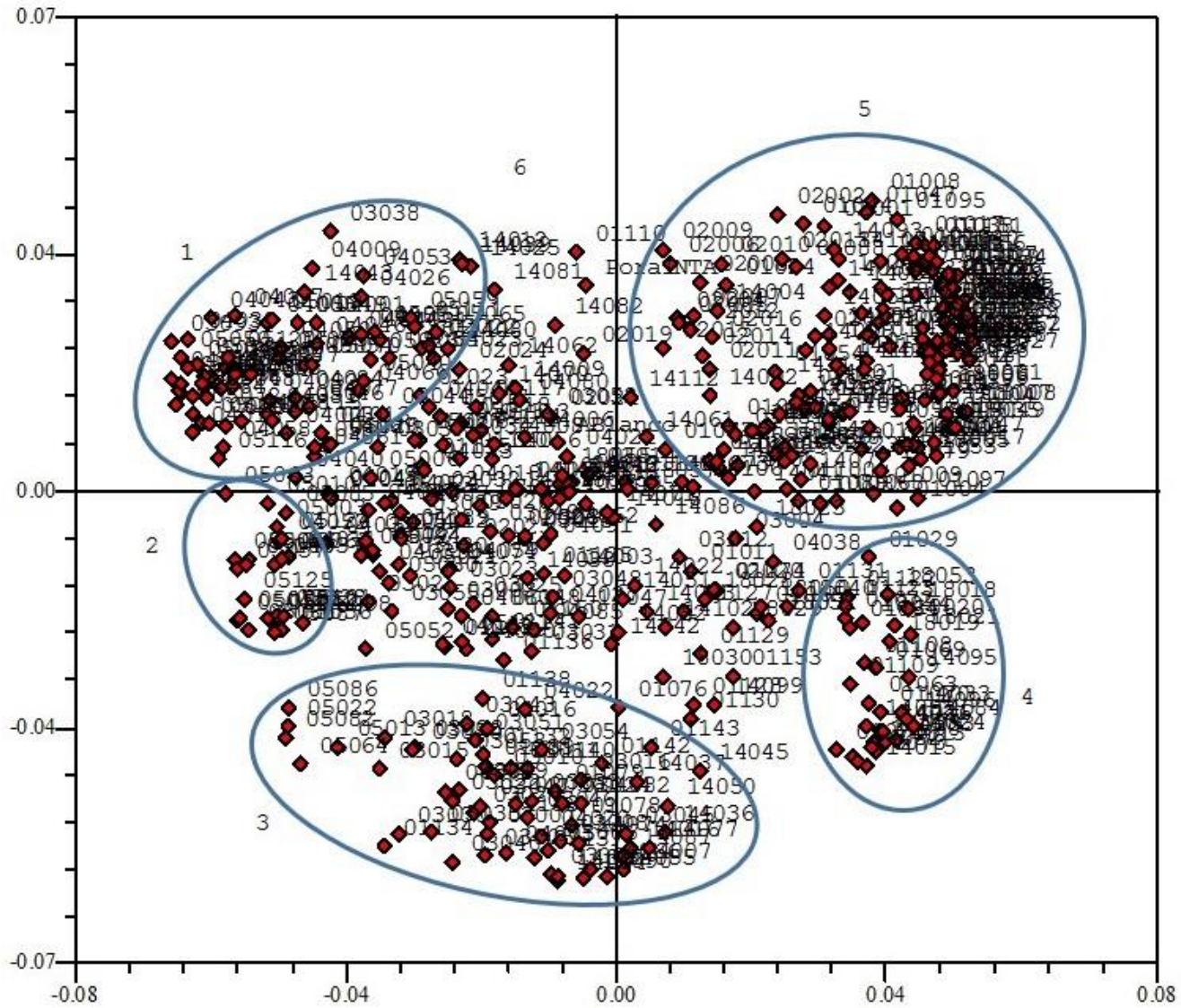
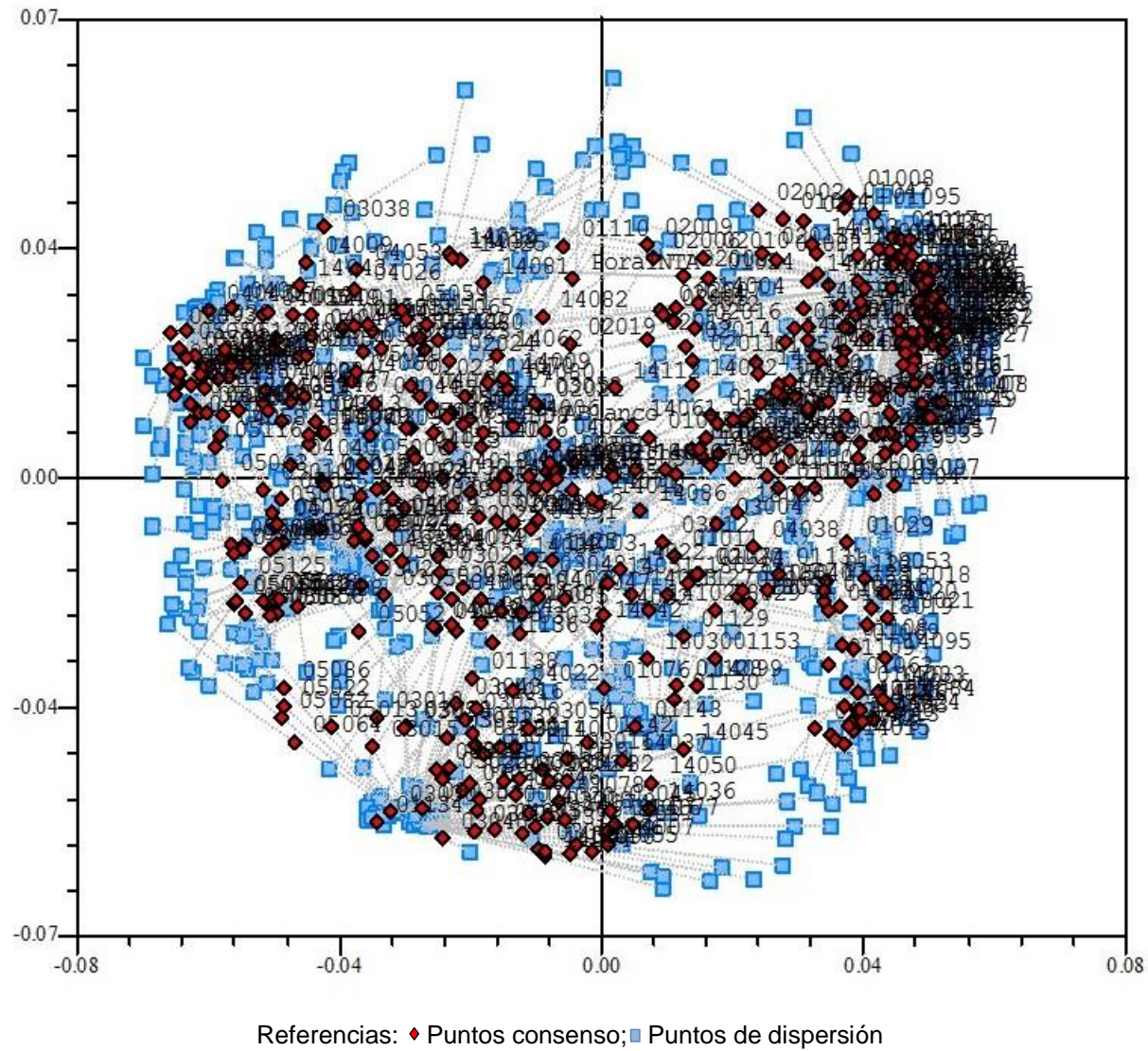


Figura 27: Análisis de Procrustes Generalizado. Valores consenso y dispersión de ambos tipos de datos, utilizando conjuntamente las variables cuanti y cualitativas sobre 510 poblaciones locales.



Posteriormente, se cuantificó la concordancia entre la caracterización cuantitativa y cualitativa para cada población para lo cual se calculó la distancia euclídea entre puntos análogos, es decir la misma población caracterizada por ambos tipos de variables. Una vez obtenida dicha distancia se clasificaron a las poblaciones en cuatro grupos de acuerdo a la mayor o menor concordancia que existe entre la clasificación que hace cada tipo de variable. La población que presentó mayor concordancia con ambos tipos de datos fue ARZM01045 y la menos concordante para ambos tipos de variables fue ARZM04012. En la tabla 9 se muestran las poblaciones presentes en cada uno de los cuatro grupos.

Tabla 9: Clasificación de las poblaciones en grupos de concordancia entre la caracterización cuantitativa y cualitativa.

Grupos de acuerdo al grado de concordancia			
1	2	3	4
01045	14034	04084	18023
01134	04091	01144	03024
01063	05028	05052	01065
04043	05090	05013	02023
01070	05125	18007	SP1234
04052	01043	04009	01024
14102	18020	18008	05121
03014	04047	01088	05006
01012	01064	03006	01059
01002	01095	04014	04077
01020	03013	04001	01149
01015	18054	14098	03021
01058	04034	05003	18025
01090	14099	03043	14081
03030	04011	18010	02010
01082	05077	01140	01050
01001	05062	03009	01120
14033	05098	18009	01110
01087	05012	04058	14007
04039	04065	PoraINTA	14087
14092	18016	03032	03045
01032	04069	01044	14004
01007	05067	04016	01097
01096	05019	05065	14118
01005	05049	14052	01147
01049	05047	18049	05122
01069	04029	05111	04063
01107	01027	05017	03002
01109	18048	01132	01009
01019	04076	04086	14110
14021	14044	04027	14016
14026	05056	18035	05094
01042	05048	03008	05030

Grupos de acuerdo al grado de concordancia			
1	2	3	4
01086	03015	14097	02003
01040	04037	01073	05074
14058	01072	04073	01075
01026	04075	14094	02016
14096	04080	14068	02019
04057	04050	05064	04056
01006	18041	02013	01004
03040	03022	03056	01141
01046	04025	05116	01080
01098	04035	01041	01131
01124	01018	01079	04019
14095	14107	14057	02008
01022	05087	02020	14073
04062	04024	01076	04072
01034	04049	04059	14072
01102	01130	14001	01136
01108	05075	01074	04038
01051	05044	14061	02011
01030	04041	01077	14082
05093	18030	02021	01068
01033	14064	01104	14037
01016	03053	04006	01125
01105	04064	03038	02014
01036	18018	01078	14077
01014	05081	01101	02007
18003	01123	18029	05040
14084	03050	18011	01114
14029	01047	04044	14039
14083	14093	04074	01085
14024	03049	03054	14012
14049	05046	04007	02012
01038	14109	05027	01081
01151	03028	14056	14002
01025	14086	Payagua	18022
05050	14053	03025	01118
05010	05072	05007	01150
01062	14089	02018	14025
01017	18006	14074	01113
14030	14043	03029	02022
01092	18053	01127	01142
01094	05085	04085	02024
05095	03010	03023	01148
05070	05023	04026	14070
04071	01146	01055	01089
05109	01106	01100	14036
05060	01139	04051	02005
14100	01122	01052	14048
05084	18001	18051	02004

Grupos de acuerdo al grado de concordancia			
1	2	3	4
01066	01008	02002	04023
14019	03018	05055	01143
05099	03001	18052	14050
14013	18037	18017	02006
01028	05016	Candelaria	04060
01056	05066	18005	02026
03035	14101	04053	14006
04036	18047	01037	14009
18019	03046	14063	01117
05076	01153	01093	14041
01013	01121	04082	04032
04078	04092	05059	02009
01091	05100	14090	02015
01003	14111	01054	03036
05002	05115	04003	14105
01039	14103	04013	14005
01021	04018	04087	01029
01067	04088	05051	14062
01031	05026	05082	14003
18012	04028	04066	01060
05057	01137	14117	18055
03027	02001	14066	BS13p
14032	02017	03044	14017
01035	01133	18028	14045
04008	03011	04022	14047
04005	18044	03016	05021
04004	04046	01053	01111
05120	04015	04089	14106
01083	01129	03031	02025
14104	05071	14038	03004
14078	03051	14080	14112
01010	04020	03003	14046
03005	04081	05022	03026
01061	05124	05112	14018
14071	03048	01023	14042
01071	18004	01138	14051
01099	01011	03055	14008
01128	04040	04031	18057
03007	03034	05063	14022
03019		05053	14023
01152		14079	03012
01057		04061	18056
14015		18050	04021
05088		01115	03052
05118		18040	04012
01048		14075	
14069		04030	
05101		05020	

Grupos de acuerdo al grado de concordancia			
1	2	3	4
18021		03020	
18046		03037	
04010		05086	
03047		14055	

Las poblaciones locales fueron representadas únicamente por el número que las identifica

VI-2.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas

Para cuantificar la significancia de la relación entre las distancias genéticas (euclídeas, surgidas de la matriz de consenso) con las geográficas (distancias lineales entre las localidades de origen) de las 510 poblaciones locales evaluadas se utilizó el test de Mantel.

Mediante el mismo se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0,41$ ($p = 1$). Este valor indicaría que la relación entre las diferencias halladas entre las poblaciones para las características evaluadas y la distancia geográficas entre las mismas es baja pero significativa.

VI-3. DISCUSIÓN

VI-3.1. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cuantitativos con la metodología seleccionada

En el Banco de Germoplasma de maíz, el cual conserva 2.549 entradas, resulta prácticamente imposible evaluar ese número de poblaciones en forma conjunta en una misma campaña. Por dicho motivo, las poblaciones conservadas se agrupan para su evaluación por caracteres morfológicos, fenológicos y agronómicos en ensayos experimentales manejables agronómicamente. Cada uno de estos ensayos está constituido por poblaciones similares en cuanto a ciclo y desarrollo vegetativo (Holland y Goodman, 1995; Wholf *et al.*, 2000). El inconveniente se presenta cuando se necesita analizar las poblaciones evaluadas en los diferentes ensayos en forma conjunta. Según lo analizado en este trabajo (presentado en el “capítulo V, Integración de información proveniente de diferentes ensayos de caracterización”) la metodología del uso de promedio a través de las repeticiones y ambientes sería apropiada para realizar la concatenación de los ensayos con el objetivo de agrupar a las poblaciones en base a sus similitudes y diferencias. Varios autores (Wholf *et al.*, 2000; Ilarslan *et al.*, 2002; Franco *et al.*, 2003; René Hortelano *et al.*, 2012; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2013) utilizan esta alternativa de análisis para agrupar a las poblaciones locales de distintas especies evaluadas en diferentes partes del mundo.

Para simplificar la visualización de los valores registrados se aplicó, sobre los valores promediados a través de las repeticiones y ambientes, la técnica multivariada de ACP. En este análisis puede observarse que las CP que contribuyen a la explicación de la variabilidad fenotípica encontrada son aquellas que presentan un valor propio mayor a 1 (Johnson, 2000) y suman en total el 81,64% de la mencionada variabilidad. Utilizando el mismo criterio para la determinación del número de CP adecuados para explicar la variabilidad, Gouesnard *et al.* (1997), Lucchin *et al.* (2003) y Harada *et al.* (2009) determinaron que con cuatro componentes explican el 77,48%, el 83,61% y el 75,5% respectivamente de la variación total detectada en sus estudios de poblaciones locales de maíz. Las dos primeras CP son las que explican la mayor variabilidad entre las poblaciones evaluadas, registrando un valor de 57,44%. Las variables que influyen con mayor peso en la primer CP son aquellas relacionadas con ciclo a floración, rendimiento y altura mientras que la segunda CP está constituida principalmente por variables relacionadas con la mazorca y el grano. Brandolini y Brandolini (2001) y Ángeles-Gaspar *et al.* (2010) determinaron que las primeras dos CP explican el 52% y el 46,7% de la variabilidad respectivamente y que la primera CP está constituida principalmente por caracteres vegetativos mientras la segunda

lo hace con características de mazorca y grano. Ignjatovic-Micic *et al.* (2013), determinaron que la primer componente se asocia a caracteres vegetativos y de la mazorca mientras que la segunda está explicada principalmente por las características de la panoja y el grano. Ristic *et al.* (2014), indican que la primera componente se asocia a caracteres vegetativos y aquellos relacionados con el rendimiento y el segundo CP lo hace con descriptores de la mazorca predominantemente.

Estas componentes se representan gráficamente en el plano y permite el agrupamiento de las poblaciones. En el presente trabajo se determinaron, en base a la similitud hallada, seis grupos de las 510 poblaciones locales evaluadas. Utilizando las dos primeras CP para agrupar poblaciones locales de maíz, Alfaro y Segovia (2000) determinaron seis grupos evaluando 86 poblaciones originarias de Venezuela, Harada *et al.* (2009) conformaron seis grupos de 105 poblaciones de Japón y Ángeles-Gaspar *et al.* (2010) hallaron cinco grupos estudiando 52 poblaciones de México.

VI-3.2. Clasificación de las poblaciones en función de sus caracteres cualitativos

En base a las variables cualitativas evaluadas se pudieron formar nueve (9) grupos homogéneos, con el uso de las dos primeras Coordenadas Principales (CooP), las cuáles explican en conjunto el 45,41% de la variabilidad registrada. Bramardi *et al.* (2005) evaluaron 41 entradas de pepino pudiendo formar dos grupos al utilizar las dos primeras CooP, las cuáles explicaban en conjunto el 62,24% de la variabilidad. Al evaluar 43 poblaciones de polinización abierta de maíz colectadas en las islas de Madeira y Porto Santo (Portugal) mediante caracteres cualitativos, Pinheiro de Carvalho *et al.* (2008) determinaron que las dos primeras CooP explicaban el 20,9% de la variabilidad conformando cuatro grupos. Defacio (2009) utilizando la misma metodología conformó cinco grupos al evaluar 145 poblaciones locales de maíz originarias de la provincia de Buenos Aires.

Esta metodología, si bien permite la formación de grupos en base a la similitud entre las poblaciones, no indica que variables ni con que peso contribuyen las mismas a la diferenciación. Sin embargo, observando las entradas que conforman cada grupo podemos determinar las características por las cuales se separan. El grupo 1 y el 5 están fundamentalmente integrados por poblaciones de textura de endosperma dentado, pero mientras el grupo 1 contiene todas aquellas poblaciones con coloración amarilla, el 5 lo hace con las de color de grano blanco. El grupo 2 concentra poblaciones de textura de grano harinosa mientras que el grupo 3 está formado por poblaciones con endosperma semidentado de coloración rojiza. El grupo 4 reúne poblaciones con endosperma blanco,

tanto dextrinoso como reventador. El agrupamiento más numeroso (grupo 6) contiene poblaciones de textura de endosperma cristalino, reventador y semidentado, todos ellos anaranjados-colorados. Los grupos 7, 8 y 9 reúnen poblaciones que presentan endosperma cristalino, diferenciándose entre ellos por el color del grano ya que el grupo 7 presenta granos de coloración blanca, en el 8 son colorados y en el 9, amarillos.

VI-3.3. Clasificación de las poblaciones por sus caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta

Las configuraciones de poblaciones según datos cuantitativos y cualitativos en el presente trabajo presentaron poca concordancia, situación sustentada por la baja correlación entre ambas matrices de distancia ($r = 0,21$) y la significancia de las diferencias en el agrupamiento. Al evaluar la diversidad genética de variedades de pepino (*Cucumis sativus* L.) en Valencia, Bramardi *et al.* (2005) hallaron altas correlaciones entre datos morfológicos y moleculares y entre datos morfológicos cuantitativos y cualitativos. Por el contrario Defacio *et al.* (2007), hallaron una correlación de $r = 0,068$ al evaluar matrices de distancia de datos cuantitativos y moleculares de 36 poblaciones locales de maíz de la raza Cristalino Colorado, así como Defacio (2009), al evaluar 145 poblaciones locales de maíz originarias de la provincia de Buenos Aires, determinó baja correlación entre datos fenotípicos cualitativos y cuantitativos.

La baja correlación encontrada en este trabajo indicaría que ambos tipos de variables explicarían la variabilidad detectada entre poblaciones locales en forma diferente. Esta baja asociación significativa también podría explicarse por el elevado número de poblaciones evaluadas, lo que daría como resultado una variabilidad fenotípica muy grande para ambos tipos de atributos (cuantitativos y cualitativos). Si se hubiesen utilizado menos poblaciones y las mismas pertenecieran a un número menor de formas raciales, tal vez la correlación podría haber sido más elevada aunque no hubiese sido de utilidad para un Banco de Germoplasma que busca evaluar la variabilidad del total de las poblaciones conservadas.

Por lo expuesto, resulta interesante utilizar alguna técnica de análisis que permita la unión de ambos tipos de datos. Franco *et al.* (2003) indicaron que el uso de toda la información conjunta produce una mejor clasificación de las poblaciones que si se utiliza solamente una parte de los datos. Apoyando lo anteriormente mencionada, Vigouroux *et al.* (2008) sostienen que el análisis conjunto de distintos tipos de datos (morfológicos, isoenzimáticos y de microsatélites) pueden potencialmente mejorar la clasificación del maíz en razas más claramente definidas, contribuyendo a un mejor entendimiento de la historia de dispersión y evolución de esta especie.

El Análisis de Procrustes Generalizado (APG) comprende sucesivos pasos y transformaciones de los datos bajo dos criterios: que se mantengan las distancias de las configuraciones individuales asociadas a cada tipo de dato y se minimice la suma de cuadrados correspondientes al mismo elemento y su centroide. Con esta técnica se obtiene la posibilidad de utilizar las medidas de distancia más adecuadas para cada conjunto de variables, sin generar ningún tipo de pérdida de información por transformaciones o adecuaciones de las variables (Bramardi, 2000). Este análisis es mayormente utilizado para realizar el análisis conjunto de datos agro-morfológicos y moleculares. Lopes *et al.* (2006) evaluaron caracteres fisiológicos y moleculares de 37 aislamientos patagónicos de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (especies relevantes en la fermentación de vinos) utilizando el APG para realizar el análisis conjunto de ambos tipos de datos. Utilizando también APG, Defacio *et al.* (2007) analizaron datos moleculares y agronómicos en poblaciones locales de maíz originarias de Argentina. En 2013 Mahuad *et al.*, empleando la misma metodología evaluaron conjuntamente datos de calidad de fruto en tomate y datos moleculares de 18 genotipos de dicha especie. Ermini *et al.* (2016) evaluaron clones de banana donde utilizaron la técnica del APG para unir la información aportada por datos de tipo fenotípicos y de marcadores moleculares AFLP (polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados).

Esta metodología también se utiliza para la unión de la información que aportan las variables cuantitativas y cualitativas; Bramardi *et al.* (2005) y Defacio (2009) utilizaron APG para la caracterización conjunta de datos cuantitativos y cualitativos de entradas de pepino y maíz respectivamente.

En este trabajo, utilizando el APG se agruparon los datos cualitativos y cuantitativos conformando seis (6) grupos de poblaciones. Si bien esta metodología no indica las características por las cuales se diferencian las poblaciones, observando las entradas que conforman cada grupo pueden mencionarse algunas características comunes en cada uno. El grupo 1 contiene predominantemente poblaciones de las razas Pisingallo, Perlita y Avatí Morotí. Las mismas presentan plantas generalmente pequeñas, de ciclo a floración corto, con mazorcas chicas y con un elevado número de granos. El segundo grupo (grupo 2) está conformado principalmente por poblaciones cuya forma racial es Dentado Amarillo con plantas de tamaño y ciclo a floración intermedios al igual que las características de mazorca y grano. Ambos grupos (1 y 2) presentan endosperma dentado y color de grano amarillo. El grupo 3 reúne a las poblaciones Dentado Blanco que presentan plantas altas, de ciclo a floración largo y mazorcas y granos de gran tamaño, con endosperma dentado de color blanco. El grupo 4 se compone de poblaciones de la raza Amarillo Ocho Hileras con plantas

pequeñas, de ciclo a floración corto, con mazorcas largas con un bajo número de hileras de granos los cuales son grandes, con endosperma corneo y color amarillo. En el quinto grupo (grupo 5) predominan las poblaciones de raza Cristalino Colorado con características de ciclo, arquitectura de planta, mazorca y grano intermedias. Además presenta textura de grano cornea y color anaranjado – colorado. El último grupo (grupo 6) está constituido por poblaciones de varias razas que poseen plantas y mazorcas de tamaño intermedio – grande, y ciclo a floración de medios a largos. Las mazorcas en general presentan granos semidentados de coloración amarilla – anaranjada. En este grupo se observa la presencia de poblaciones que pertenecen a razas englobadas en otro grupo como Pisingallo o Cristalino Colorado, lo que indicaría que, si bien estas poblaciones por sus características cualitativas pertenecen a una determinada forma racial, sus características cuantitativas las reagrupan en forma diferente, más similares a otras razas.

Por lo tanto, la utilización de metodologías como las mencionadas permite un agrupamiento más claro de las poblaciones conservadas en un Banco de Germoplasma, pudiendo así detectarse poblaciones que se agrupan juntas por sus caracteres cualitativos presentando diferencias fenotípicas por sus atributos cuantitativos. Este punto resulta particularmente importante ya que todos los Bancos de Germoplasma clasifican las poblaciones de maíz conservadas en razas. Las mismas hacen referencia a caracteres morfológicos (mayormente cualitativos) de mazorca y grano. Algunos autores como Ferrer (1987), Gutiérrez *et al.* (2003) y Ortiz *et al.* (2008), comparan la clasificación numérica con la racial, indicando que esta última es una forma más rápida de caracterizar las numerosas poblaciones conservadas en los Bancos de Germoplasma ya que la misma concuerda en gran medida con la clasificación por variables cuantitativas. A pesar de ello, los autores mencionados sostienen en cada uno de sus trabajos que las evaluaciones mediante caracteres cuantitativos son de fundamental importancia ya que permiten identificar los atributos que diferencian a las poblaciones y realizar una preselección en base a los mismos y no al azar, lo cual resulta importante para el mejoramiento genético del cultivo.

Independientemente del agrupamiento, se pueden detectar algunas poblaciones que presentan una gran dispersión entre los dos tipos de variable respecto al consenso mientras otras presentaron una concordancia muy elevada entre ambos tipos de caracteres. La entrada que presenta mayor concordancia entre los dos tipos de variables es ARZM01045 mientras que la que presenta una concordancia menor es la población ARZM04012. En el primer caso, las variables de tipo cuantitativa y cualitativa agrupan a la población de la misma manera, en cambio en el segundo, la población es clasificada de una manera por sus atributos cualitativos y de forma muy diferente por sus caracteres cuantitativos. Bramardi *et*

al. (2005) evaluando variedades de pepino determinaron que la mayor concordancia entre variables morfológicas y agronómicas se daba en variedades previamente clasificadas como grupo Dutch, mientras que los cultivares del tipo Gherkin mostraban la mayor discrepancia entre ambas ordenaciones. En el presente trabajo, la mayor o menor concordancia entre los agrupamientos que hacen cada tipo de variable no muestra ninguna relación con la forma racial o el origen geográfico de las poblaciones. De hecho, las poblaciones ARZM01045 y ARZM04012, si bien presentan orígenes distintos siendo la primera colectada en la provincia de Buenos Aires y la segunda de Corrientes, ambas pertenecen a la misma forma racial.

La caracterización lograda a partir de ambos tipos de variable en forma conjunta permitiría ratificar la conformación de la Colección Núcleo (CN). Una CN puede definirse como una muestra de tamaño reducido de la colección total, que abarca el espectro de variabilidad genética presente en ella, con un mínimo de redundancia (Abadie y Berreta, 2005). En el caso de maíz en Argentina, al igual que en todos los países del cono Sur de América del Sur, la CN se formó en base a la información registrada en los datos de pasaporte (criterio geográfico) y cualitativos correspondientes a la textura de grano. Al combinar ambos criterios de clasificación se obtuvieron 36 grupos, cada uno representa las entradas de una zona agroclimática con una textura de grano específica (Hourquescos *et al.*, 2005). Estudios como los realizados en esta tesis permitirán comparar los rangos de variabilidad retenidos en la colección núcleo con respecto a la variabilidad total existente en la colección base.

VI-3.4. Relación entre las clasificaciones en función de caracteres cuantitativos y cualitativos en forma conjunta y distancias geográficas

La relación entre la distancia genética de los genotipos evaluados y las distancias geográficas que lo separan puede medirse a través de la correlación que hay entre ambas matrices de distancia utilizando el test de Mantel.

En el presente trabajo donde se evaluaron poblaciones originarias de localidades con condiciones edafo-climáticas muy diferentes y de formas raciales diversas se encontró una asociación mediana a baja ($r = 0,41$) entre ambas matrices de distancia, aunque la misma resultó significativa.

Resultados donde se manifiesta una baja correlación entre ambas matrices han encontrado Lucchin *et al.* (2003), quienes hallaron una correlación $r = 0,095$ entre distancias genéticas y geográficas al evaluar poblaciones locales de maíz *flint* italiano. Melchiorre *et al.*

(2002) tampoco encontraron relación entre la altitud de la localidad donde las poblaciones fueron colectadas y la distancia genética entre las mismas.

Por el contrario, Gouesnard *et al.* (1997) estimaron una elevada correlación ($r = 0,7$) al evaluar 262 poblaciones locales de maíz francesas entre datos morfológicos y geográficos. Vigouroux *et al.* (2008), evaluando con marcadores de tipo microsatélite 945 entradas de todo el continente americano estimaron un coeficiente de correlación ($r = 0,41$) significativo concluyendo que hubo un fuerte componente geográfico en la organización de la diversidad genética a escala continental.

Resultados contrastantes también fueron hallados en otras especies vegetales y animales. Stronen *et al.* (2014) determinaron la existencia de correlación no significativa ($r = 0,011$) entre las distancias genéticas y geográficas de las distintas islas habitadas por lobos grises (*Canis lupus*) en Canadá. Tampoco encontraron correlación Toledo-Hernández *et al.* (2014) caracterizando molecularmente poblaciones de pez león (*Pterois volitans*) en Puerto Rico, ni Torres *et al.* (2003) al evaluar poblaciones de *Antirrhinum microphyllum* en España. Ghalmi *et al.* (2010) revelan que la variación en los caracteres morfológicos en poblaciones locales de Caupí se corresponde a diferencias en la distribución geográfica ratificada por una correlación moderada y significativa ($r = 0,28$) entre las distancias genéticas y geográficas. Pusadee *et al.* (2009) encontraron elevada correlación entre distancias genéticas y geográficas al evaluar poblaciones locales de arroz ($r = 0,599$) y Brennan *et al.* (2014) estudiando *Arabidopsis thaliana* en el norte de África ($r = 0,59$).

Más allá del valor de correlación encontrado en el presente trabajo y de las similitudes y diferencias con respecto a lo hallado por otros autores, para encontrar un parámetro más exacto de la relación entre variabilidad genética y origen geográfico podrían incluirse otras variables edafo-climáticas. Stornen *et al.* (2014), proponen que factores como cercanía al agua o rugosidad del terreno estarían interactuando independientemente de las distancias geográficas presente entre las poblaciones. Las poblaciones locales de maíz evaluadas fueron colectadas en lugares que, más allá de los datos de latitud y longitud utilizados para determinar la distancia geográfica, presentaban diferencias en altitud, condiciones climáticas (temperatura y precipitaciones principalmente) y edáficas. Ágeles-Gaspar *et al.* (2010) determinaron que los agrupamientos detectados entre las poblaciones locales en la región de Puebla, México, están influenciados por el gradiente altitudinal. Luchin *et al.* (2003), indican que el fotoperíodo, la temperatura y la humedad, asociadas con la altitud donde el maíz ha crecido ha sido un factor básico en el desarrollo de las poblaciones nativas, las cuales contienen alelos localmente adaptados a las condiciones en las que se desarrollaron.

Además, el uso otorgado a dichas poblaciones por parte de las comunidades locales en cada una de las regiones agro-ecológicas también será distinto, pudiendo esto generar cierta relación entre el origen geográfico y la divergencia genética entre las poblaciones. Alike *et al.* (1993) mencionan que según la zona ecológica y los hábitos culinarios de las diferentes culturas nigerianas, se detectaba una separación de color de grano y tipo de endosperma. Lucchin *et al.* (2003) afirman que la diferenciación entre las poblaciones es detectable por varios caracteres distintivos como consecuencia de la presión de selección natural y humana.

Costa Tártara (2014), evaluando la variabilidad de genotipos nativos de quinua del Noroeste Argentino (NOA) mediante marcadores de tipo microsatélite, pudo diferenciar cuatro grupos que se correspondían a regiones agro-ecológicamente diferentes. La autora concluye que la magnitud de la diversidad genética a nivel de grupo presentó un gradiente decreciente de oeste a este junto con la altitud, encontrando una correlación baja pero significativa con el régimen de precipitaciones de la región donde las entradas fueron colectadas. Además, plantea que el gradiente de diversidad genética se refleja también en un gradiente en el síndrome de domesticación que presenta la especie, encontrándose mayor diversidad en sitios de mayor antigüedad de uso, evidenciando un patrón característico de una especie que evolucionó como cultivo. Conclusiones similares obtuvieron Curti *et al.* (2012), al evaluar 34 poblaciones de quinua originarias del NOA mediante caracteres fenotípicos cuantitativos y cualitativos.

Otro factor importante a cubrir sería el de incorporar mayor número de variables diversas, como resistencias a enfermedades y comportamiento a estrés abióticos. Evaluando poblaciones locales Argentinas por su comportamiento al Virus del Mal de Río Cuarto, Presello *et al.* (1996), hallaron elevada correlación entre la presencia de la enfermedad y el lugar de origen de las poblaciones. Los autores determinaron que las poblaciones que mostraban resistencia se habían colectado en la zona endémica donde se desarrolló la enfermedad, atribuyendo la resistencia a la co-evolución de las poblaciones con el patógeno.

Por todo lo mencionado, en trabajos futuros sería conveniente incorporar caracteres edafo-climáticos, de altitud de la región de colecta y uso al cual se destinan cada una de las poblaciones locales evaluadas, además de incorporar nuevas variables. Estos datos permitirán determinar en forma más exacta la relación entre características agromorfológicas y geográficas.

CAPÍTULO VII- CONSIDERACIONES FINALES

Previo a enumerar las conclusiones de este trabajo de Tesis, es pertinente destacar que resulta sumamente complejo evaluar en forma conjunta todas las poblaciones conservadas en un Banco de Germoplasma. Por este motivo, el desarrollo de nuevas metodologías que faciliten esta tarea es de fundamental importancia para quienes conservan poblaciones locales. Por otro lado, cuando se realizan evaluaciones del germoplasma, en general, se estudian muchas variables en forma conjunta, y las mismas pueden ser muy influenciadas por el ambiente, con lo cual contar con distintas metodologías que puedan registrar y evaluar la interacción genotipo-ambiente también es un aporte muy importante.

Por lo mencionado, en el presente trabajo, se aplicaron en una primera instancia técnicas para el estudio de la interacción genotipo-ambiente empleando metodologías tradicionales como ANOVA y AMMI frente a otras más innovadoras como AFM. Se logró determinar que esta última enriquece la interpretación de los resultados ya que permite tratar la información en forma multivariada (analiza un conjunto de variables) pudiendo determinar la presencia de interacción genotipo-ambiente para cada una de las variables analizadas.

Posteriormente se evaluaron tres estrategias metodológicas para caracterizar en forma conjunta poblaciones evaluadas en diferentes ensayos. Las técnicas analizadas fueron cálculo del promedio aritmético y concatenación de ensayos sin considerar este efecto ni el del ambiente, planteo de un modelo lineal mixto para estimación y eliminación de efecto ambiente, ensayos y sus interacciones y uso del Análisis de Procrustes Generalizado (APG) a tres modos para el tratamiento de datos provenientes de ensayos incompletos conectados por individuos comunes, propuesta metodológica desarrollada para este trabajo de tesis. Por dicho motivo, se explicó detalladamente el procedimiento de esta última forma de análisis. Luego se compararon las diferentes estrategias pudiendo seleccionar la más adecuada para la caracterización en forma conjunta de las poblaciones evaluadas en el BAP en diferentes ensayos experimentales. Las tres metodologías arrojaron agrupamientos similares, aunque no idénticos, entre las poblaciones locales evaluadas.

Los resultados más dispares correspondieron a la técnica derivada APG, y esta situación permitió determinar la necesidad de plantear dos supuestos indispensables para su aplicación, que las poblaciones comunes o testigo deben formar grupos (al menos dos) con diferencias significativas en las variables consideradas y que estos grupos permanezcan

estables a lo largo de las condiciones. Estos puntos deberán ser tenidos en cuenta en futuras evaluaciones en las que se pretenda aplicar esta estrategia de caracterización

Realizada la comparación entre las metodologías propuestas se definió que, para agrupar a las poblaciones en base a sus semejanzas, el promedio aritmético resultó ser una técnica sencilla de aplicar y muy eficiente. Aplicando esta metodología a las variables cuantitativas se estudiaron las poblaciones evaluadas en el BAP a lo largo de siete campañas agrícolas y 13 ensayos comparativos. Sobre estos valores medios se aplicó la técnica de ACP. Las mismas poblaciones fueron evaluadas por sus variables cualitativas mediante un ACooP. Ambos análisis arrojaron resultados diferentes y complementarios por lo cual se aplicó la metodología de APG para tratar en forma conjunta ambos tipos de variables. De este modo se obtuvo un agrupamiento de las poblaciones mucho más rico que utilizando cada tipo de variable en forma separada.

Por último, se evaluó la relación entre la variabilidad genética obtenida con la metodología del APG con las distancias geográficas que surgen de las zonas de colecta de cada una de las poblaciones.

A modo de resumen, en el presente trabajo de tesis se arribaron a las siguientes conclusiones:

- ✓ Las técnicas de tres vías permiten un mejor aprovechamiento de la información proveniente de la caracterización de poblaciones locales de maíz, ya que con ellas pueden diferenciarse los efectos del ambiente y sus interacciones, las cuales son muy importantes desde el punto de vista genético.
- ✓ Se estudiaron y evaluaron en forma comparativa la metodología de APG para ensayos incompletos conectados, desarrollada para este trabajo, con las técnicas de análisis tradicionales determinadas por los métodos de promedio aritmético y de modelos lineales mixtos para la estimación y eliminación de efectos del ambiente y sus interacciones. La metodología del promedio aritmético resultó ser la más conveniente para agrupar a las poblaciones locales, si el objetivo es sólo considerar similitud entre las mismas.
- ✓ Fue posible agrupar a las poblaciones evaluadas en base a sus semejanzas y diferencias tanto para caracteres cuantitativos, cualitativos y en forma conjunta, utilizando diferentes técnicas de Análisis Multivariados según la naturaleza de la variable analizada.

- ✓ Se encontró una relación media-baja pero significativa entre el agrupamiento por características agro-morfológicas y geográficas indicando que no es posible determinar la variabilidad en las poblaciones locales únicamente por su lugar de colecta.

CAPÍTULO VIII- BIBIOGRAFÍA

- Abadie T., Berretta, A. 2005. Desarrollo de colecciones núcleo de maíz en el Cono Sur de América Latina: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay / coord. por Tabaré Abadie y Ana Berretta. – Montevideo (Uruguay): PROCISUR/IICA, 2005. 90 p. ISBN 92-90-39-698-9.
- Abascal Fernández E. and Landaluce Calvo M.I. 2002. Análisis factorial múltiple como técnica de estudio de la estabilidad de los resultados de Análisis de Componentes Principales. QÜESTIÓ, vol. 26 (1-2): 109-122.
- Abdi, H. and Valentin, D., 2007. Multiple factor analysis. In N.J. Salkind (Ed.): Encyclopedia of Measurement and Statistics. Thousand Oaks (CA): Sage. pp. 657-663.
- Alika J.E., Aken`Ova M.E. and Fatokun C.A. 1993. Variation among maize (*Zea mays* L.) accessions of Bendel State, Nigeria. Multivariate analysis of agronomic data. Euphytica 66:65-71.
- Alfaro Y. y Segovia V., 2000. Maíces del sur de Venezuela clasificados por taxonomía numérica. I. Caracteres de la planta. Agronomía Tropical 50 (3): 413-433.
- Álvarez A. and Ruiz de la Galarreta J.I. 1999. Genotipo-environment interaction in maize landraces from northern Spain. J. Genetic and Breed. 53: 177-181.
- Andrade F., Cirilo A., Uhart S. y Otegui M. 1996. Ecofisiología del cultivo de maíz. Ed. La Barrosa. Balcarce, Buenos Aires. 292 pp.
- Ángeles-Gaspar E., Ortiz-Torres E, López P.A., López-Romero G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. Rev. Fitotex. Mex. Vol. 33(4): 287-296.
- Balzarini M.G., Di Rienzo J.A. InfoGen versión 2016. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.info-gen.com.ar>
- Balzarini M, Bruno C, Peña A, Teich I, Di Rienzo J.A. (2010). Estadística en Biotecnología. Aplicaciones en Info-Gen Ed. Grupo de Editores. Córdoba, Argentina.
- Basford K.E., Kroonenberg P.M., De Lacy I.H. and Lawrence P.K. 1990. Multiattribute evaluation of regional cotton variety trials. Theor Appl Gent 79:225-234.
- Bermejo C., Cravero V.P., López Anido F.S. and Cointy E.L. 2010. Agronomic and molecular evaluation of recombinant inbred lines (RILs) of lentil. Journal of Plant Breeding and Crop Science 2 (9): 280-285.
- Bertoia L.M. 2001. Forage yield and quality combining ability of maize composites whit different improvement level. Maydica 46:87-92.

- Bige T. and Lorenzoni C. 2007. Characterization of maize (*Zea mays* L.) germplasm of Angola. *Maydica* 52: 135-144.
- Bolsa de Comercio de Rosario, 2015. Bolsa de Comercio de Rosario. <http://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/infoboletinsemanal.aspx?IdArticulo=1136>
- Bramardi S. J. 2000. Estrategias para el análisis de datos en la caracterización de recursos genéticos. Tesis doctoral, depto. de estadística e investigación operativa. Universidad Politécnica de Valencia, España. 388 pp.
- Bramardi S.J., Bernet G.P., Asíns M.J. and Carbonell E.A. 2005. Simultaneous Agronomic and Molecular Characterization of Genotypes via the Generalised Procrustes Analysis: An Application to Cucumber. *Crop Sci.* 45:1603-1609.
- Brandolini A, and Brandolini A., 2001. Classification of Italian maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Plant Genetic Resource Newsletter* 126: 1-11.
- Brennan A.C., Méndez-Vigo B., Haddioui A., Martínez-Zapater J.M., Picó F.X. and Alonso-Blanco C. 2014. The genetic structure of *Arabidopsis thaliana* in the southwestern Mediterranean range reveals a shared history between North Africa and southern Europe. *BMC Plant Biology* 2014, 14:17. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/14/17>
- Castillo-González F. and Goodman M.M. 1989. Agronomic Evaluation of Latin American Maize Accessions. *Crop Sci.* 29:853-861.
- Chapman S.C., Crossa J., Basford K.E. and Kroonenberg P.M. 1997. Genotype by environment effects and selection for drought tolerance in tropical maize. II. Three-mode pattern analysis. *Euphytica* 95:11-20.
- Chapman S.C. and De la Vega A.J. 2002. Spatial and seasonal effects confounding interpretation of sunflower yields in Argentina. *Field Crops Research* 73: 107-120.
- CIMMYT/IBPGR. 1991. Descriptores de maíz. México-Roma. 88pp.
- Costa Tártara S.M. 2014. Variabilidad genética de *Chenopodium quinoa Willd.* en el Noroeste Argentino y su relación con la dispersión de la especie. Tesis doctoral. Fac. De Ciencias Agrarias y forestales, UNLP. 143 pp.
- Crossa J., Nasford K., Taba S., DeLacy I. and Silva E. 1995. Three-mode analyses of maize using morphological and agronomic attribute measured in multilocational trials. *Crop Sci.* 35: 1483-1491.
- Curti R.N., Andrade A.J., Bramardi S.J., Velásquez B. and Bertero H.D. 2012. Ecogeographic structure of phenotypic diversity in cultivated populations of quinoa from northwest Argentina. *Ann Appl Biol* 160: 114-125.

- Defacio R.A., Paz N.M., Scropanich F.M., Bramardi S.J., Schlatter A.R. y 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. En: XXXVI Congreso Argentino de Genética. 23 – 26 de septiembre. Pergamino, Buenos Aires (AR). P. 166.
- Defacio, R. 2009. Caracterización y evaluación de la variabilidad genética en poblaciones nativas de maíz (*Zea mays* L.) de la Provincia de Buenos Aires en base a descriptores morfológicos y agronómicos. Tesis Maestría en Genética Vegetal; Área Mejoramiento Genético. UNR/INTA. Magister Scientiae. 93p. + 1 CD.
- Del Médico A.P 2016. Técnicas Multivariadas de Tres Modos. Estudio de la Heredabilidad de Caracteres de Calidad en Tomate. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Económicas y Estadísticas. UNR. 83pp.
- De la Vega A.J., Chapman S.C., and Hall A.J. 2001. Genotype by Environment Interaction and Indirect Selection for Yield Sunflower I. Two-mode pattern analysis of oil and biomass yield across environments in Argentina. *Field Crop Research* 72:17-38.
- De la Vega A.J. and Chapman S.C. 2001. Genotype by environment interaction and Indirect Selection for Yield Sunflower II. Three-mode principal component analysis of oil and biomass yield across environments in Argentina. *Field Crop Research* 72: 39-50.
- De la Vega A.J., Hall A.J. and Kroonenberg P.M. 2002. Investigating the physiological bases of predictable and unpredictable genotype by environment interactions using three-mode pattern analysis. *Field Crop Research* 78: 165-183.
- Dhungana P., Eskridge K.M., Baenziger P.S., Campbell B.T. Gill K.S. and Dweikat I. 2007. Analysis of genotype-by-environment Interaction in Wheat Using a Structural Equation Model and Chromosome Substitution Lines. *Crop Sci.* 47:447-484.
- Dudnik N.S., Thormann I. and Hodgkin T. 2001. The extent of Use of Plant Genetic Resources in Research-A Literature Survey. *Crop Sci* 41:6-10.
- Epinat-Le Signor S., Dousse J., Lorgeou J., Denis R., Bonhomme P., Carolo P., and Charcosset A. 2001. Interpretation of genotype x environment interactions for early maize hybrid over 12 year. *Crop Sci* 41:663-669.
- Ermini J.L., Tenaglia G y Pratta G.R. 2016. Genetic diversity, ancestry relationships and consensus among phenotype and 1 genotype in banana (*Musa acuminata*) clones from Formosa (Argentina) farmers. *Plant Cell Biotechnology and Molecular biology* 17(7-8):267-278.

- Esquinas–Alcázar J. 2005. Protecting crop genetic diversity for food security: political, ethical and technical challenges. Nature Publishing Group. Volumen 6: 946-953.
- Eyhérbide G. H. 2003. Utilización de los recursos genéticos en el mejoramiento vegetal. En: IV Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. 10 – 14 de noviembre. Mar del Plata, Buenos Aires (AR). p. 18-20.
- Eyhérbide G.H., Lorea R.D., Delucchi C., López C.G., Ferrer M.E., Presello D.A. y Defacio R.A. 2005. Evaluación del potencial de variedades nativas de maíz como recurso para el mejoramiento de un cruzamiento entre líneas duras coloradas. En: VIII Congreso Nacional de Maíz. 16 – 18 de noviembre. Rosario, Santa Fe (AR). P. 354-357.
- Fehr W.R. 1987. Principles of cultivar development. Theory and technique. 536 pp.
- Fernández Aguirre K., Landaluce Calvo M.I. y Modroño Herrán J.I. 2013. Estadística Española, Vol. 55, número 182: 305-322.
- Ferrer M. E. 1987. “Evaluación y agrupamiento de poblaciones de maíz de zonas altas del NOA, aplicando diferentes metodologías taxonómicas, para la formación de compuestos”. Tesis de Maestría en Mejoramiento Genético Vegetal. INTA-UNR. Argentina.
- Ferrer M.E., Solari L. y Hourquescos M.J. 1998. Maíz. Los Recursos fitogenéticos en Argentina. p. 27 – 29.
- Franco J., Crossa J., Villaseñor J., Castillo A., Taba S. and Eberhart S.A. 1999. A two-stage, three-way method for classifying genetic resources in multiple environments. Crop Sci. 39: 259-267.
- Franco J., Crossa J., Taba S. and Shands H. 2003. A multivariate method for classifying cultivars and studying group x environment x trait interaction. Crop Sci. 43: 1249-1258.
- Franco T.L. e Hidalgo R. (eds). 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico nº 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Fundora Mayor Z., Hernandez M., López R., Fernández L., Sanchez A., López J. Y Ravelo I. 2004. Analysis of the variability in collected peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars for the establishment of core collections. Plant Genetic Resource Newsletter 137:9-13.
- Gaspar E.A., Ortiz-Torres E., López P.A. y López-Romero G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. Rev. Fitotec. Mex. 33(4):287-296.

- Ghalmi N., Malice M., Jacquemin J.M., Ounane S.M., Mekliche L. and Baudoin J.P. 2010. Morphological and molecular diversity within Algerian cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Landraces. *Genet Resource Crop Evol* (2010) 57:371–386.
- Gouesnard B., Dallard J., Panouillé A. and Boyat A. 1997. Classification of French maize populations based on morphological traits. *Agronomie* 17:491-498.
- Grandón N.G., Alarcón Y., Moreno M.V., Arolfo V., Orodizzi A., Basigalup D.H., Gieco J.O. and Bruno C. 2013. Genetic diversity among alfalfa genotypes (*Medicago sativa* L.) of non-dormant cultivars using SSR markers and agronomic traits. *FCA.UNCUYO* 45 (2): 181-195. ISSN impreso 0370-4661. ISSN (en línea) 1853-8665.
- Gutiérrez L., Franco J., Crossa J. y Abadie T., 2003. Comparing a Preliminary Racial Classification whit a Numerical Classification of the Maize Landraces of Uruguay. *Crop Sci.* 43:718-727.
- Hanelt P. 2001. Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. (Eds) Institute of Pant Genetics and Crop Plant Research. 3645 p. 191 fig. Geb. ISBN: 3-540-41017-1.
- Harada K., Van Huan N. and Ueno H. 2009. Classification of maize landraces from Shikoku and Kyushu, Japan, based on phenotypic characteristics. *Jarq* 43 (3): 213-220.
- Holland J. B. and Goodman M. M., 1995. Combining Ability of Tropical Maize Accessions with U. S. Germoplasm. *Crop Sci.* 35:767-773.
- Hourquescos M.J., Ferrer M., Suarez R., Vilaró M. y Abadie T. 2005. Colección Núcleo de Argentina. En: Desarrollo de colecciones núcleo de maíz en el Cono Sur de América Latina: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay / coord. por Tabaré Abadie y Ana Berretta. – Montevideo (Uruguay): PROCISUR/IICA, 2005. 90 p. ISBN 92-90-39-698-9.
- Ignjatovic-Micic D., Ristic D., Babic V., Andjelkovic V., Markovic K. and Vancetovis J. 2013. Genetic assessment of maize landraces from former Yugoslavia. *Genetika*, Vol. 45, No.2,405-417.
- Ilarslan R., Kaya Z., Kandemir I. and Bretting P.K. 2002. Genetic variability among Turkish pop. Flint and dent corn (*Zea mays* L. spp. *mays*) races: Morphological and agronomic traits. *Euphytica* 128: 173-182.
- Incognito S.J.P., Eyhérabide G.H., Bertoia L.M. and López C.G. 2013. Breeding Potential of Elite Maize Landraces to Improve Forage Yield and Quality of Two Heterotic Patterns. *Crop Sci.* 53:1–11.

- Johnson D.E. 2000. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. International Thomson Editores, S.A. de C.V. Buenos Aires, Argentina. Pp: 566.
- Kroonenberg P.M. and Basford K.E. 1989. An investigation of multi-attribute genotype response across environments using three-mode principal component analysis. *Euphytica* 44: 109-123.
- Kumar P. and Singh N.K. 2015. Determining behavior of maize genotypes and growing environment using AMMI statistics. *SAARC J. Agri.*, 13(1):162-173.
- Lavalle A. 2016. Propuesta Metodológica en el marco del Análisis Multivariado a Tres Vías para caracterización de recursos fitogenéticos en Bancos de Germoplasma. Tesis de Doctorado en Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de General Sarmiento. Pp: 154.
- Lavalle, A. y Bramardi, S. (2009). Propuesta metodológica para la obtención de configuración consenso en ensayos multiambientales incompletos conectados. II Encuentro Iberoamericano de Biometría. Veracruz. México.
- Lavalle, A. y Bramardi, S. (2016). An algorithm base on generalized procrustes analysis to find the consensus of several configurations of individuals connected by common checks. *Advances and Applications in Statistics*, 49(1): 31-48. ISSN: 0972-3617. Science Citation Index Expanded (SciSearch) <http://dx.doi.org/10.17654/AS049010031>
- Lavalle A. y Curia, L. (2016). GPA for incomplete structures. File ID: #57300. <http://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/57300-gpa-for-incomplete-structures>
- Lê, S., Josse, J. and Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. 25(1). pp. 1-18. <http://www.jstatsoft.org/v25/i01/>
- Lopes C.A, Rodríguez M.E., Querol A., Bramardi S.J. and Caballero A.C. 2006. Relationship between molecular and enological features of Patagonian wine yeasts: relevance in selection protocols. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22:827-833.
- López C.G., Eyhéabide G.H., Delucchi C., Percibaldi N.M., Castellarín J., Pedrol H. Y Borrás F. 2005. Selección de poblaciones locales de maíz como fuente de alelos favorables para el mejoramiento del peso hectolítrico y la relación de molienda en un híbrido flint x dentado. En: VIII Congreso Nacional de Maíz. 16 – 18 de noviembre. Rosario, Santa Fe (AR). p. 358-363.

- López Harburu M. 2014. Evaluación de la interacción genotipo por ambiente e identificación de mega ambientes en materiales elite en el cultivo de maíz (*Zea mays* L). Tesis Maestría en Genética Vegetal; Área Mejoramiento Genético. UNR/INTA. Magister Scientiae. 74 pp + 1 CD.
- Lucchin M., Barcaccia G. and Parrini P. 2003. Characterization of a flint maize (*Zea mays* L. convar. Mays) Italian landrace: I. Morpho-phenological and agronomic traits. *Genetic Resource and Crop Evolution* 50:315-327.
- Luna J.T. y Safont Lis J. 1978. El maíz en la Argentina. Vulnerabilidad y recursos genéticos. *Ciencia e investigación*, tomo 34, nº 3-4-5-6: 83-90.
- Mahuad S.L., Pratta G.R., Rodriguez G.R., Zorzoli R and Picardi L.A. 2013. Preservation of *Solanum pimpinillifolium* genomic fragments in recombinant genotypes improved the fruit quality of tomato. *Journal of genetic* 92 (2): 195-203.
- Marticorena M.; Bramardi, S.; Defacio, R. 2010. Characterization of maize populations in different environmental conditions by means of Three-Mode Principal Components Analysis. *Revista Ciencia e Investigación Agraria*. 37(3): 93-105. ISSN 0304-5609 (printed), ISSN 0718-1620. ISI Master Journal List.
- Marticorena M. Tesis en elaboración. Método Tucker: una alternativa para la caracterización de recursos fitogenéticos considerando interacción genotipo-ambiente. Tesis de maestría en estadística aplicada. Universidad Nacional del Comahue. Pp: 235.
- Melchiorre P., Bartoloni N. and Camussi A., 2002. Assessment of genetic differences among late landraces from the Argentine northwestern collection of maize (*Zea mays* ssp *mays*). *J. Genet and Breed*. 56:61-67.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2016. <http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/>
- Ortiz R., Crossa J., Franco J., Sevilla R. and Burgueño J., 2008. Classification of Peruvian highland maize races using plant traits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55:151-162.
- Paliwal R.L. 2001. El maíz en los trópicos. Colección FAO: Producción y protección vegetal 28. Roma.
- Panthee D.P., Cao G., Debenport S.J., Rodríguez G.R., Labate J.A., Robertson L.D., Breksa A.P., van der Knaap E. and McSpadden Gardener B.B. 2012. Magnitude of genotype x Environment interactions affecting tomato fruit quality. *Hort Science* 47 (6): 721-726.

- Paterson A.H., Saranga Y. Menz M. and Jiang C.X. 2003. QTL analysis of genotype x environment interactions affecting cotton fiber quality. *Theor Appl Genet* 106: 384-396.
- Peña, D. 2002. Análisis de datos multivariantes. Editora McGraw-Hill/ Interamericana de España, S.A.U. ISBN: 84-481-3610-1. 539 pp.
- Pinheiro de Carvalho M.A.A., Texeira Ganança J.F., Abreu I., Sousa N.F. Marques dos Santos T.M., Clemente Vieira M.R. and Motto M. 2008. Evaluation of the maize (*Zea mays* L.) diversity on the Archipelago of Madeira. *Genet Resour Crop Evol.* 55: 21-233.
- Pratta G.R., Rodríguez G.R., Zorzoli R., Valle E.M. and Picardi L.A. 2011. Molecular markers detect stable genomic regions underlying tomato fruit shelf life and weight. *Crop Breeding an Applied Biotechnology* 11: 157-164.
- Presello D., Ferrer M., Solari L. y Céliz A. 1996. Resistencia al virus del Mal de Río Cuarto en variedades locales argentinas de maíz. *RIA* 27:19-26.
- Presello D.A., Iglesias J., Botta G., Reid L.M., Lori G.A. y Eyhérabide G.H. 2006. Stability of Maize Resistance to the Ear Rots Caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Argentinian and Canadian Environment. *Euphytica* 147:403-407.
- Pusadeea T., Jamjoda S., Chiangb Y., Rerkasema B. and Schaal B.A. 2009. Genetic structure and isolation by distance in a landrace of Thai rice. *PNAS*, vol. 106, no. 33: 13880–13885. Disponible en: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0906720106
- Reeb P.D., Bramardi S.J. y Álvarez O. 2003. Alternativas de análisis estadísticos para caracterización de poblaciones en función de grupos de variables. En: VIII Reunión Científica Grupo Argentino de Biometría. 16-18 de octubre. Mendoza (AR). P. 187-188.
- Rebb P.; Bramardi S.; Defacio R. 2007. Estimación y tratamiento del efecto ambiente y sus interacciones en la caracterización de Recursos Genéticos en un Banco de Germoplasma. XI Conferencia Española y I Encuentro Iberoamericano de Biometría. Salamanca. España, Junio 2007. Resumen ampliado en Actas, págs. 187-188. ISBN 978-84-9718-471-7.
- René Hortelano S.R., Gil Muñoz A., Santacruz Varela A., López Sánchez H., López P.A. y Miranda Colín S. 2012. Diversidad fenotípica de maíces nativos del altiplano centro-oriente de estado de Puebla, México. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 35 (2): 97-109.
- Rincon F., Johnson B., Crossa J. and Taba S. 1997. Identifying Subset of maize accessions by three-mode principal component analysis. *Crop Sci.* 37:1936-1943.

- Ristic D., Kostadinovic M., Kravic N., Andjelkovic V., Vancetovic J. and Ignjatovic-Micic D. 2014. Genetic diversity in maize flint landraces assessment by morphological and SSR markers. Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food. Volume 2, ISSN 1314-8591. Disponible en: <http://www.scientific-publications.net>
- Ritchie, S. W. and J. J. Hanway. 1982. How a corn plant develops. Iowa State Univ. Special Report 48.
- Rohlf, F.J. 2002. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.1. Exeter Publishing, Ltd. Setauket. NY.
- Salhuana W., Pollak L.M., Ferrer M.E., Paratori O. and Vivo G. 1998. Breeding Potential of Maize Accessions from Argentina, Chile, USA, and Uruguay. Crop Sci. 38:866-872.
- Sánchez J.J., Goodman M.M. and Stuber C.W. 2007. Racial diversity of maize in Brazil and adjacent areas. Maydica 52: 13-30.
- Satorre, E. H.; Benech Arnold, L. R.; Slafer, G. A.; De la Fuente E. B.; Miralles, D. J.; Otegui, M. E. y Savin, R. 2003. Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Pp.:783.
- SAS Institute. 2008. SAS/STAT Software: Changes and enhancements through. Release 8.2. Carry, NC.
- Stronen A.V., Navis E.L., Quinn M.S., Paquet P.C., Bryan H.M. and Darimont C.T. 2014. Population genetic structure of gray wolves (*Canis lupus*) in a marine archipelago suggests island-mainland differentiation consistent with dietary niche. BMC Ecology: 14:11.
- Taba S., Díaz J., Franco J., and Crossa J., 1998. Evaluation of Caribbean Accessions to Develop a Core Subset. Crop Sci. 38:1378-1386.
- Toledo-Hernández C., Vélez-Zuazo X., Ruíz-Díaz C.P., Patricio A.R., Mège P., Navarro M., Sabat A.M. Betancur-R R. and Papa R. 2014. Population ecology and genetics of the invasive lionfish in Puerto Rico. Aquatic invasions 9 (2): 227-237.
- Torres E., Iriando J., Escudero A. and Pérez C. 2003. Analysis of within-population spatial genetic structure in *Antirrhinum microphyllum* (*Scrophulariaceae*). American Journal of Botany 90(12): 1688–1695.
- Troyer, A.F., 1988. Measurement of Genetic Diversity Among Popular Commercial Corn Hybrid. Crop Sci. 28: 481-485.
- Troyer, A.F., 2006. Adaptedness and Heterosis in Corn and Mule Hybrids. Crop Sci. 46:528-543.

- Ungerer M.C., Halldorsottir S.S., Purugganan M.D. and Mackay T.F.C. 2003. Genotype-environment interactions at quantitative trait loci affecting inflorescence development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 165: 353-365.
- USDA 2016 <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>
<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Table+01+World+Crop+Production+Summary&hidReportRetrievalID=425&hidReportRetrievalTemplateID=2>
- Varela M., Vicente J.L., Galindo P., Blázquez A., Castillo J.G y Estévez A. 2008. Una generalización de los modelos AMMI basada en el algoritmo de Tuckals3 para el análisis de componentes principales de tres modos. *Cultivos tropicales* 29 (1): 69-72.
- Vázquez Carrillo M.G., Ramos D.S., Salinas Moreno Y., Rojas Martínez I., Arellano Vázquez J.L., Velázquez Cardelas G.A., Espinosa Calderón A. 2012. Interacción genotipo-ambiente del rendimiento y calidad de grano y tortilla de híbridos de maíz en valles altos de Tlaxcala, México. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 35 (3): 229-237.
- Vigouroux Y, Glaubitz J.C. Matsouka Y., Goodman M.M. Sánchez J. and Doebley J. 2008. Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *American journal of botany* 95 (10): 1240-1253.
- Vitelleschi, M.S. y Chavasa, V. 2015. Análisis factorial múltiple para la caracterización de variedades de trigo pan en diferentes ambientes. *Revista FABICIB* 19: 111-117.
- Wolf D.P., Peternelli L.A. and Hallauer A.R. 2000. Estimates of genetic variance in an F2 Maize Population. *The American Genetic Association* 91:384-391.
- Workie A., Habtamu Z. and Yigzaw D. 2013. Genotype X environment interaction of maize (*Zea mays* L.) across North Western Ethiopia. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, Vol. 5(9): 171-181.
- Xiang K., Yang K.C., Pan G.T., Reid L.M. Li W.T., Zhu X. and Zhang Z.M. 2010. Genetic diversity and classification of maize landraces from China's Sichuan basin based on agronomic traits, quality traits, combining ability and SSR markers. *Maydica* 55:85-93.
- Zuliani P.; Lavallo A.; Bramardi S.; Defacio R. 2012. Caracterización de poblaciones nativas de maíz mediante Análisis de Procrustes Generalizado y Análisis Factorial Múltiple. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCuyo)*, 44(1): 49-64. URL <http://bdigital.uncu.edu.ar/4487>. ISSN: 0370-4661 (Impreso), 1853-8665 (en línea). ISI Master Journal List.

- Zuliani P. 2012. Evaluación comparativa de las Técnicas Multivariadas Análisis Factorial Múltiple y Análisis de Procrustes Generalizado para el tratamiento de Datos de Tres Modos. Tesis de Maestría en estadística aplicada. Universidad Nacional de Córdoba. Pp: 182.

ANEXO I

Datos de pasaporte (localidad, provincia, altitud, latitud y longitud) y forma racial de las 510 poblaciones utilizadas en el estudio

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
01001	C. Colorado	Acevedo	Buenos Aires	70	3346	6027
01002	C. Colorado	Rancagua	Buenos Aires	69	3402	6030
01003	C. Colorado	Rancagua	Buenos Aires	69	3402	6030
01004	C. Colorado	Arroyo Dulce	Buenos Aires	75	3406	6024
01005	C. Colorado	Arroyo Dulce	Buenos Aires	75	3406	6024
01006	C. Colorado	Tacuari	Buenos Aires	69	3413	6019
01007	C. Colorado	Salto	Buenos Aires	51	3418	6015
01008	C. Colorado	Salto	Buenos Aires	51	3418	6015
01009	C. Colorado	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01010	C. Colorado	Los Toldos	Buenos Aires	72	3435	6058
01011	C. Colorado	Junín	Buenos Aires	80	3435	6058
01012	C. Colorado	Arenales	Buenos Aires	84	3419	6118
01013	C. Colorado	Rojas	Buenos Aires	69	3412	6044
01014	C. Colorado	Chacabuco	Buenos Aires	69	3438	6029
01015	C. Colorado	Salto	Buenos Aires	51	3418	6015
01016	C. Colorado	Arroyo Burgos	Buenos Aires	38	3404	6007
01017	C. Colorado	San Pedro	Buenos Aires	27	3342	5941
01018	C. Colorado	Conesa	Buenos Aires	58	3336	6022
01019	C. Colorado	Conesa	Buenos Aires	58	3336	6022
01020	C. Colorado	Conesa	Buenos Aires	58	3336	6022
01021	C. Colorado	Guerrico	Buenos Aires	63	3341	6024
01022	C. Colorado	Ortiz Basualdo	Buenos Aires	64	3403	6039
01023	C. Amarillo	Ortiz Basualdo	Buenos Aires	64	3403	6039
01024	C. Colorado	San Carlos	Buenos Aires	50	3415	6032
01025	C. Colorado	Hunter	Buenos Aires	50	3415	6032
01026	C. Colorado	Ferré	Buenos Aires	88	3408	6108
01027	C. Colorado	Carabelas	Buenos Aires	83	3403	6052
01028	C. Colorado	Colón	Buenos Aires	90	3359	6106
01029	C. Colorado	Pergamino	Buenos Aires	66	3354	6035
01030	C. Colorado	Conesa	Buenos Aires	58	3336	6022
01031	C. Colorado	El Paraíso	Buenos Aires	33	3334	5959
01032	C. Colorado	El Paraíso	Buenos Aires	33	3334	5959
01033	C. Colorado	El Paraíso	Buenos Aires	33	3334	5959
01034	C. Colorado	El Paraíso	Buenos Aires	33	3334	5959
01035	C. Colorado	San Nicolás	Buenos Aires	27	3320	6013
01036	C. Colorado	Conesa	Buenos Aires	58	3336	6022
01037	C. Colorado	Acevedo	Buenos Aires	70	3346	6027
01038	C. Colorado	Mariano Benitez	Buenos Aires	70	3343	6035
01039	C. Colorado	Rancagua	Buenos Aires	69	3402	6030
01040	C. Colorado	Rancagua	Buenos Aires	69	3402	6030
01041	C. Colorado	Arroyo Dulce	Buenos Aires	75	3406	6024
01042	C. Colorado	Salto	Buenos Aires	51	3418	6015
01043	C. Colorado	Coronel Isleno	Buenos Aires	63	3425	6024

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
01044	C. Colorado	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01045	C. Colorado	Guerrico	Buenos Aires	63	3341	6024
01046	C. Colorado	Tacuari	Buenos Aires	69	3413	6019
01047	C. Colorado	Capitán Sarmiento	Buenos Aires	49	3411	5947
01048	C. Colorado	La Violeta	Buenos Aires	55	3344	6011
01049	C. Colorado	Pergamino	Buenos Aires	66	3354	6035
01050	C. Colorado	Duggan	Buenos Aires	59	3412	5939
01051	C. Colorado	Rojas	Buenos Aires	69	3412	6044
01052	C. Colorado	Todd	Buenos Aires	45	3402	6010
01053	C. Colorado	San Pedro	Buenos Aires	27	3342	5941
01054	C. Colorado	Buenos Aires	Buenos Aires	20	3438	5828
01055	C. Colorado	Rancagua	Buenos Aires	69	3402	6030
01056	C. Colorado	Mariano Alfonso	Buenos Aires	62	3355	6050
01057	C. Colorado	El Paraíso	Buenos Aires	33	3334	5959
01058	C. Colorado	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01059	C. Amarillo	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01060	D. Amarillo	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01061	C. Colorado	General Arenales	Buenos Aires	84	3419	6118
01062	C. Colorado	Chacabuco	Buenos Aires	69	3438	6029
01063	A. Ocho Hileras	Chacabuco	Buenos Aires	69	3438	6029
01064	A. Ocho Hileras	Coronel Isleno	Buenos Aires	63	3425	6024
01065	C. Amarillo	El Retamo	Buenos Aires	63	3425	6024
01066	C. Colorado	Rojas	Buenos Aires	69	3412	6044
01067	C. Colorado	Inés Indart	Buenos Aires	63	3424	6032
01068	C. Colorado	Coronel Isleno	Buenos Aires	63	3425	6024
01069	A. Ocho Hileras	Colón	Buenos Aires	62	3355	6050
01070	A. Ocho Hileras	Mariano Alfonso	Buenos Aires	55	3454	6001
01071	A. Ocho Hileras	Chivilcoy	Buenos Aires	69	3438	6029
01072	A. Ocho Hileras	Chacabuco	Buenos Aires	69	3438	6029
01073	C. Amarillo	Chacabuco	Buenos Aires	69	3438	6029
01074	C. Amarillo	Chivilcoy	Buenos Aires	55	3454	6001
01075	C. Amarillo	Bragado	Buenos Aires	59	3507	6030
01076	C. Amarillo	Baradero	Buenos Aires	29	3349	5930
01077	C. Amarillo	Pla	Buenos Aires	55	3507	6013
01078	D. Blanco	San Pedro	Buenos Aires	27	3342	5941
01079	D. Blanco	Buenos Aires	Buenos Aires	20	3438	5828
01080	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01081	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01082	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01083	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01085	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01086	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01087	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01088	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01089	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01090	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01091	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01092	C. Colorado	Pigüé	Buenos Aires	298	6224	3741
01093	C. Colorado	Pigüé	Buenos Aires	298	6224	3741

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
01094	C. Colorado	Coronel Suárez	Buenos Aires	234	6156	3728
01095	C. Colorado	Coronel Suárez	Buenos Aires	234	6156	3728
01096	C. Colorado	Coronel Suárez	Buenos Aires	234	6156	3728
01097	C. Colorado	Coronel Suárez	Buenos Aires	234	6156	3728
01098	C. Colorado	Salazar	Buenos Aires	116	6145	3637
01099	C. Colorado	Salazar	Buenos Aires	116	6145	3637
01100	Pericario Rojo	Pirovano	Buenos Aires	114	6134	3631
01101	C. Colorado	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01102	C. Colorado	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01103	C. Colorado	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01104	C. Colorado	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01105	C. Colorado	Campo San Carlos	Buenos Aires	96	6244	3558
01106	C. Colorado	Estancia La Chita	Buenos Aires	106	6259	3529
01107	C. Colorado	Estancia El Naranjo	Buenos Aires	106	6259	3529
01108	A. Ocho Hileras	Ruta 33 Km 331	Buenos Aires	96	6244	3558
01109	A. Ocho Hileras	Henderson	Buenos Aires	111	6141	3618
01110	Pisingallo	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01111	Pisingallo	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01113	Dulce	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01114	Dulce	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01115	Dulce	General Cerri	Buenos Aires	19	6216	3844
01117	Dulce	Colonia La Merced	Buenos Aires	43	6242	3850
01118	Dulce	Colonia La Merced	Buenos Aires	43	6242	3850
01120	Dulce	General Cerri	Buenos Aires	19	6216	3844
01121	C. Colorado	Trenque Lauquen	Buenos Aires	96	6244	3558
01122	A. Ocho Hileras	Trenque Lauquen	Buenos Aires	96	6244	3558
01123	A. Ocho Hileras	Trenque Lauquen	Buenos Aires	96	6244	3558
01124	C. Colorado	Trenque Lauquen	Buenos Aires	96	6244	3558
01125	Calchaquí	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01127	B. Ocho Hileras	Coronel Suárez	Buenos Aires	234	6156	3728
01128	B. Ocho Hileras	Henderson	Buenos Aires	111	6141	3618
01129	B. Ocho Hileras	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01130	No Clasificable	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01131	B. Ocho Hileras	Casbas	Buenos Aires	109	6236	3702
01132	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01133	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01134	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01136	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01137	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01138	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01139	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01140	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01141	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01142	D. Blanco	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01143	D. Blanco	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01144	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01146	C. A. Anaranjado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01147	C. Colorado	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01148	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
01149	D. Blanco	Nueva Roma	Buenos Aires	285	6214	3806
01150	D. Blanco	Carhue	Buenos Aires	112	6245	3711
01151	C. Colorado	Mones Cazon	Buenos Aires	88	6153	3548
01152	C. Colorado	Carlos Tejedor	Buenos Aires	96	6225	3523
01153	B. Ocho Hileras	Rivadavia	Buenos Aires	106	6259	3529
02001	C. Colorado	Juncal	Santa Fe	78	6103	3343
02002	C. Colorado	Wheelwright	Santa Fe	96	6113	3348
02003	C. Colorado	Wheelwright	Santa Fe	96	6113	3348
02004	C. Colorado	Wheelwright	Santa Fe	96	6113	3348
02005	C. Colorado	Hughes	Santa Fe	100	6120	3348
02006	C. Colorado	Uranga	Santa Fe	26	6042	3316
02007	C. Colorado	La Rabiola	Santa Fe	112	6158	3346
02008	C. Colorado	Godoy	Santa Fe	49	6030	3322
02009	C. Colorado	Stepherson	Santa Fe	35	6034	3325
02010	C. Colorado	Sargento Cabral	Santa Fe	44	6037	3326
02011	C. Colorado	Empalme Villa	Santa Fe	25	6023	3315
02012	C. Colorado	Uranga	Santa Fe	26	6042	3316
02013	C. Colorado	Godoy	Santa Fe	49	6030	3322
02014	C. Colorado	Chovet	Santa Fe	103	6137	3336
02015	C. Colorado	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
02016	C. Colorado	Santa Teresa	Santa Fe	61	6111	3235
02017	C. Colorado	Elortondo	Santa Fe	101	6137	3322
02018	C. Colorado	Murphi	Santa Fe	112	6158	3346
02019	C. Amarillo	Teodelina	Santa Fe	89	6134	3410
02020	C. Amarillo	Uranga	Santa Fe	26	6042	3316
02021	C. Amarillo	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
02022	D. Amarillo	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
02023	D. Amarillo	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
02024	D. Amarillo	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
02025	D. Blanco	Wheelwright	Santa Fe	96	6113	3348
02026	C. Blanco	Casilda	Santa Fe	76	6111	3303
03001	C. Colorado	Santa Anita	Entre Ríos	57	5846	3210
03002	C. Colorado	Colonia Caseros	Entre Ríos	57	5828	3228
03003	Camelia	Colonia Pantanosa	Entre Ríos	39	5838	3215
03004	C. Colorado	Santa Anita	Entre Ríos	57	5846	3210
03005	D. Blanco	Santa Ana	Entre Ríos	31	5756	3054
03006	D. Blanco	Santa Ana	Entre Ríos	31	5756	3054
03007	D. Blanco	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03008	D. Blanco	Villa Rosario	Entre Ríos	65	5755	3048
03009	D. Blanco	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03010	D. Blanco	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03011	D. Blanco	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03012	C. Colorado	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03013	Camelia	Colonia Sauce	Entre Ríos	62	5759	3049
03014	Amargo	La Matilde	Entre Ríos	68	5749	3051
03015	D. Blanco	La Matilde	Entre Ríos	68	5749	3051
03016	D. Blanco	Villa Rosario	Entre Ríos	65	5755	3048
03018	D. Blanco	Santa Eloisa	Entre Ríos	62	5754	3050
03019	D. Blanco	Santa Eloisa	Entre Ríos	62	5754	3050

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
03020	Camelia	Santa Eloisa	Entre Ríos	62	5754	3050
03021	C. A. Anaranjado	Clonia Razzeta	Entre Ríos	54	5801	3039
03022	D. Blanco	Clonia Razzeta	Entre Ríos	54	5801	3039
03023	Camelia	Clonia Razzeta	Entre Ríos	54	5801	3039
03024	D. Blanco	Clonia Razzeta	Entre Ríos	54	5801	3039
03025	Camelia	Colonia La Florida	Entre Ríos	63	5753	3103
03026	Calchaquí	Colonia La Florida	Entre Ríos	63	5753	3103
03027	D. Blanco	Santa María	Entre Ríos	69	6000	3136
03028	D. Blanco	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03029	Camelia	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03030	D. Blanco	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03031	Calchaquí	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03032	Camelia	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03033	D. Blanco	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03034	Camelia	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03035	D. Blanco	Colonia Tuna	Entre Ríos	48	5818	3021
03036	Calchaquí	Colonia Nueve	Entre Ríos	54	5818	3021
03037	Camelia	Colonia Nueve	Entre Ríos	54	5818	3021
03038	A. Moroti	Colonia La Esmeralda	Entre Ríos	61	5839	3018
03040	D. Blanco	Colonia Oficial n°18	Entre Ríos	69	5844	3023
03043	D. Blanco	Ejido Norte	Entre Ríos	67	5845	3023
03044	A. Moroti Ti	Ejido Norte	Entre Ríos	67	5845	3023
03045	D. Blanco	Ejido Norte	Entre Ríos	67	5845	3023
03046	D. Blanco	Pancho ramirez	Entre Ríos	69	5846	3051
03047	D. Blanco	Colonia Avigdor	Entre Ríos	64	5926	3111
03048	Amargo	Colonia Avigdor	Entre Ríos	64	5926	3111
03049	Amargo	Colonia Avigdor	Entre Ríos	64	5926	3111
03050	D. Blanco	Colonia Avigdor	Entre Ríos	64	5926	3111
03051	D. Blanco	Colonia Viraro	Entre Ríos	55	5922	3117
03052	C. Colorado	Mojones Norte	Entre Ríos	58	5914	3129
03053	D. Blanco	Colonia 21 Cricecita	Entre Ríos	58	5949	3224
03054	D. Blanco	Colonia 21 Cricecita	Entre Ríos	58	5949	3224
03055	C. A. Anaranjado	Colonia 21 Cricecita	Entre Ríos	58	5949	3224
03056	D. Blanco	Colonia 21 Cricecita	Entre Ríos	58	5949	3224
04001	Perlita	Sant Tome	Corrientes	80	5602	2834
04003	A. Moroti Ti	Sant Tome	Corrientes	80	5602	2834
04004	A. Moroti	Sant Tome	Corrientes	80	5602	2834
04005	Pisingallo	Sant Tome	Corrientes	80	5602	2834
04006	C. de Formosa	Sant Tome	Corrientes	80	5602	2834
04007	C. Colorado	Mercedes	Corrientes	98	5804	2911
04008	A. Moroti	Mercedes	Corrientes	98	5804	2911
04009	Pisingallo	Mercedes	Corrientes	98	5804	2911
04010	A. Moroti	Mercedes	Corrientes	98	5804	2911
04011	No Clasificable	Ista Cora	Corrientes	53	5804	2911
04012	C. Colorado	Ista Cora	Corrientes	53	5814	2911
04013	Pisingallo	Ista Cora	Corrientes	53	5814	2911
04014	Perlita	Ista Cora	Corrientes	53	5814	2911
04015	A. Moroti	Paraje Tacuaba	Corrientes	69	5738	3015
04016	D. Blanco	Paraje Tacuaba	Corrientes	69	5738	3015

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
04018	Camelia	Colonia Libertad	Corrientes	80	5749	3003
04019	A. Moroti	Colonia Libertad	Corrientes	80	5749	3003
04020	D. Blanco	Colonia Libertad	Corrientes	80	5749	3003
04021	C. Colorado	La Cruz	Corrientes	80	5749	3003
04022	D. Blanco	Colonia El Ceibo	Corrientes	85	5803	2941
04023	Pisingallo	Perugorria	Corrientes	70	5836	2921
04024	A. Moroti Ti	Perugorria	Corrientes	70	5836	2921
04025	A. Moroti	Picada Rep. Paraguay	Corrientes	70	5836	2921
04026	A. Moroti	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04027	Complejo tropical	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04028	A. Moroti	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04029	A. Moroti	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04030	Complejo tropical	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04031	Perlita	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04032	A. Moroti	Ifran	Corrientes	66	5859	2905
04034	A. Moroti	Paraje Villa Córdoba	Corrientes	46	5905	2859
04035	D. Amarillo	Paraje Naranjito	Corrientes	46	5817	2856
04036	A. Moroti	Paraje Naranjito	Corrientes	46	5817	2856
04037	A. Moroti Ti	Paraje Naranjito	Corrientes	46	5817	2856
04038	Complejo tropical	Paraje Naranjito	Corrientes	46	5817	2856
04039	A. Moroti	Paraje Monte Florido	Corrientes	46	5817	2856
04040	A. Moroti Ti	Paraje San Pedro	Corrientes	45	5911	2912
04041	A. Moroti Ti	Paraje San Pedro	Corrientes	45	5911	2912
04043	A. Moroti	P. S. Pedro-Cnia Sta. Ana	Corrientes	48	5913	2914
04044	TUSON	Paraje Manantiales	Corrientes	50	5911	2909
04046	A. Moroti	Paraje Manantiales	Corrientes	50	5911	2909
04047	A. Moroti Ti	Paraje Santa Rosa	Corrientes	49	5914	2912
04049	A. Moroti Ti	Paraje San Ramón	Corrientes	42	5917	2910
04050	A. Moroti	Paraje San Ramón	Corrientes	42	5917	2910
04051	A. Moroti	Paraje San rafael	Corrientes	40	5913	2906
04052	D. Amarillo	Paraje Buena Vista	Corrientes	42	5846	2926
04053	A. Moroti	Paraje Cañadita	Corrientes	38	5905	3012
04056	D. Amarillo	Paraje Cañadita	Corrientes	40	5905	3012
04057	A. Moroti	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04058	A. Moroti	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04059	C. de Formosa	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04060	Calchaquí	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04061	A. Pichinga	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04062	C. A. Anaranjado	Corrientes	Corrientes	39	5850	2728
04063	C. de Formosa	El Sombrero	Corrientes	61	5846	2743
04064	A. Moroti	El Sombrero	Corrientes	61	5846	2743
04065	A. Moroti	Derqui	Corrientes	60	5847	2751
04066	Pisingallo	Derqui	Corrientes	60	5847	2751
04069	No Clasificable	Empedrado	Corrientes	69	5849	2757
04071	C. de Formosa	Empedrado	Corrientes	69	5849	2757
04072	C. de Formosa	San Lorenzo	Corrientes	68	5846	2808
04073	C. de Formosa	San Lorenzo	Corrientes	68	5849	2808
04074	Venezolano	Saladas	Corrientes	66	5838	2815
04075	D. Blanco	Saladas	Corrientes	66	5838	2815

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
04076	A. Moroti	Saladas	Corrientes	66	5838	2815
04077	Pisingallo	Bella Vista	Corrientes	63	5802	2831
04078	D. Blanco	Baradero	Corrientes	63	5802	2831
04080	C. de Formosa	Saladas	Corrientes	63	5838	2815
04081	A. Moroti	Santa Lucía	Corrientes	47	5906	2859
04082	D. Blanco	Santa Lucía	Corrientes	47	5906	2859
04084	A. Moroti	Lavalle	Corrientes	47	5911	2902
04085	Complejo Tropical	Lavalle	Corrientes	47	5911	2902
04086	C. Colorado	Costa batel	Corrientes	47	5846	2857
04087	Complejo Tropical	Yataity Calle	Corrientes	47	5855	2902
04088	A. Moroti	Yataity Calle	Corrientes	47	5855	2902
04089	Complejo Tropical	Yataity Calle	Corrientes	47	5855	2902
04091	Complejo Tropical	Colonia Carolina	Corrientes	61	5937	2909
04092	A. Moroti	Colonia Carolina	Corrientes	61	5937	2909
05002	D. Amarillo	Leandro Alem	Misiones	290	5519	2736
05003	Perlita	Leandro Alem	Misiones	290	5519	2736
05006	Cravo	Colonia Tarauco	Misiones	235	5529	2712
05007	Pisingallo	Colonia Tarauco	Misiones	235	5529	2712
05010	D. Amarillo	Colonia Tarauco	Misiones	235	5529	2712
05012	D. Amarillo	Olegario Andrade	Misiones	200	5530	2734
05013	D. Blanco	Olegario Andrade	Misiones	200	5530	2734
05016	A. Moroti	Almafuerte	Misiones	200	5530	2734
05017	Cravo	Almafuerte	Misiones	200	5530	2734
05019	Perlita	Picada Sueca	Misiones	318	5528	2733
05020	A. Pichinga	Picada Sueca	Misiones	318	5528	2733
05021	Perla	Picada San Martín	Misiones	318	5528	2733
05022	D. Blanco	Picada Yapeyú	Misiones	318	5528	2733
05023	Perlita	Villa Industrial	Misiones	318	5528	2733
05026	Cravo	Alberdi	Misiones	318	5528	2733
05027	Cravo	Alberdi	Misiones	318	5528	2733
05028	D. Amarillo	Alberdi	Misiones	318	5528	2733
05030	Tuson	San Ignacio	Misiones	320	5510	2730
05040	Perlita	Campo Viera	Misiones	300	5503	2720
05044	D. Amarillo	Aristobulo del Valle	Misiones	380	5454	2708
05046	Perlita	Aristobulo del Valle	Misiones	380	5454	2708
05047	A. Moroti	Aristobulo del Valle	Misiones	380	5454	2708
05048	A. Moroti	Picada Rep. Paraguay	Misiones	380	5454	2707
05049	Perlita	Picada Rep. Paraguay	Misiones	380	5454	2707
05050	A. Moroti	Picada Rep. Paraguay	Misiones	380	5454	2707
05051	Pisingallo	San Vicente	Misiones	276	5423	2649
05052	D. Amarillo	San Vicente	Misiones	276	5423	2649
05053	Cravo	Colonia Zulma	Misiones	200	5509	2730
05054	Pisingallo	Ruta Alicia Km 33	Misiones	150	5426	2712
05055	Perlita	Ruta Alicia Km 33	Misiones	150	5426	2712
05056	D. Amarillo	KM 28	Misiones	150	5426	2712
05057	D. Amarillo FINO	KM 28	Misiones	150	5426	2712
05059	Perlita	San Vicente	Misiones	276	5423	2649
05060	Perlita	Río Victoria	Misiones	276	5511	2732
05062	D. Amarillo	Río Victoria	Misiones	276	5511	2732

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
05063	A. Moroti	Río Victoria	Misiones	320	5511	2732
05064	D. Blanco	Colonia Tariana km 270	Misiones	276	5423	2649
05065	Perlita	Colonia 271 Río Victoria	Misiones	276	5712	2732
05066	No Clasificable	Colonia 271 Río Victoria	Misiones	276	5712	2732
05067	A. Moroti Ti	Campo Las Monjas km.300	Misiones	276	5712	2732
05070	A. Moroti Mita	Campo Las Monjas km.300	Misiones	276	5712	2732
05071	Cravo	San Pedro	Misiones	510	5408	2638
05072	A. Moroti	San Pedro	Misiones	510	5408	2638
05074	Venezolano	Tobuna	Misiones	510	5408	2638
05075	D. Amarillo	Bernardo de Irigoyen	Misiones	805	5337	2615
05076	Pisingallo	Bernardo de Irigoyen	Misiones	805	5337	2615
05077	A. Moroti	Boreti Iguazú	Misiones	805	5337	2615
05081	D. Amarillo	Mandore	Misiones	750	5441	2626
05082	D. Blanco	Mandore	Misiones	750	5441	2626
05084	A. Moroti	Mandore	Misiones	750	5441	2626
05085	A. Moroti Ti	Mandore	Misiones	750	5441	2626
05086	D. Blanco	El Dorado	Misiones	215	5441	2626
05087	D. Amarillo	El Dorado	Misiones	215	5441	2626
05088	A. Moroti	El Dorado	Misiones	215	5441	2626
05090	A. Moroti	Boreti Iguazú	Misiones	215	5434	2658
05093	A. Moroti	uruguay	Misiones	215	5434	2658
05094	Venezolano	esperanza	Misiones	125	5434	2601
05095	No Clasificable	Colonia Mado	Misiones	125	5434	2601
05098	D. Amarillo	Monte Carlo	Misiones	130	5447	2633
05099	A. Moroti	Monte Carlo	Misiones	130	5447	2633
05100	A. Moroti	Monte Carlo	Misiones	130	5447	2633
05101	D. Amarillo	Monte Carlo	Misiones	130	5447	2633
05109	D. Amarillo	Puerto rico	Misiones	205	5502	2648
05111	Pisingallo	R. Montoya	Misiones	200	5503	2658
05112	Cravo	R. Montoya	Misiones	200	5503	2658
05115	Perlita	San Ignacio	Misiones	180	5531	2714
05116	A. Moroti	San Ignacio	Misiones	180	5531	2714
05118	A. Moroti	Santo Pipo	Misiones	232	5524	2708
05120	Perlita	Hipólito Yrigoyen	Misiones	210	5517	2706
05121	Complejo Tropical	Apóstoles	Misiones	110	5540	2804
05122	C. de Formosa	Azara	Misiones	110	5540	2804
05124	Perlita	Azara	Misiones	110	5540	2804
05125	D. Amarillo	Azara	Misiones	110	5540	2804
14001	C. Colorado	Alta Gracia	Córdoba	550	6436	3140
14002	C. Colorado	Chucul	Córdoba	412	6410	3301
14003	D. Amarillo	Elena	Córdoba	435	6422	3234
14004	C. Colorado	El Crucero	Córdoba	459	6411	3125
14005	C. Colorado	Thfa	Córdoba	710	6431	3103
14006	D. Amarillo	Elena	Córdoba	435	6422	3234
14007	D. Blanco	Avellaneda	Córdoba	702	6411	3035
14008	C. Blanco	Pichanas	Córdoba	407	6511	3048
14009	Pisingallo	Alto del Durazno	Córdoba	790	6419	3130
14012	Pisingallo	Paraje El Cano	Córdoba	750	6435	3237

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
14013	A. Ocho Hileras	Las Lagunitas	Córdoba	678	6414	3533
14015	A. Ocho Hileras	Las Tapas	Córdoba	700	6444	3244
14016	D. Blanco	Las Lagunitas	Córdoba	678	6414	3533
14017	Calchaquí	Río de Los Sauces	Córdoba	550	6434	3231
14018	D. Amarillo	Alpa Corral	Córdoba	730	6433	3240
14019	C. Colorado	Alta Gracia	Córdoba	730	6433	3240
14021	A. Ocho Hileras	Río de Los Sauces	Córdoba	550	6434	3231
14022	D. Amarillo	Río de Los Sauces	Córdoba	550	6434	3231
14023	D. Amarillo	Cerro San Lorenzo	Córdoba	845	6502	3140
14024	A. Ocho Hileras	Cerro San Lorenzo	Córdoba	845	6502	3140
14025	Pisingallo	Cerro San Lorenzo	Córdoba	845	6502	3140
14026	A. Ocho Hileras	Cerro San Lorenzo	Córdoba	845	6502	3140
14029	A. Ocho Hileras	Valle de La Cruz	Córdoba	600	6418	3216
14030	A. Ocho Hileras	Valle de La Cruz	Córdoba	600	6418	3216
14032	A. Ocho Hileras	El Quebracho	Córdoba	591	6420	3213
14033	A. Ocho Hileras	El Quebracho	Córdoba	591	6420	3213
14034	C. Colorado	Athos Pampa	Córdoba	900	6440	3159
14036	D. Blanco	Athos Pampa	Córdoba	900	6440	3159
14037	D. Blanco	Los Reartes	Córdoba	750	6434	3155
14038	Pericarpio Rojo	Los Reartes	Córdoba	750	6434	3155
14039	Pisingallo	Los Reartes	Córdoba	750	6434	3155
14041	C. Colorado	Los Reartes	Córdoba	750	6434	3155
14042	D. Amarillo	Athos Pampa	Córdoba	900	6440	3159
14043	Pisingallo	La Capilla	Córdoba	615	6421	3218
14044	C. Colorado	La Capilla	Córdoba	615	6421	3218
14045	D. Blanco	La Capilla	Córdoba	615	6421	3218
14046	Calchaquí	San Ignacio	Córdoba	650	6431	3209
14047	D. Amarillo	San Ignacio	Córdoba	650	6431	3209
14048	No Clasificable	Sta. Rosa de Calamuchita	Córdoba	600	6433	3204
14049	C. Colorado	Santa Rosa	Córdoba	600	6433	3204
14050	D. Blanco	Santa Rosa	Córdoba	600	6433	3204
14051	D. Amarillo	Santa Rosa	Córdoba	600	6433	3204
14052	Calchaquí	Santa Rosa	Córdoba	600	6433	3204
14053	C. Colorado	Chuña	Córdoba	493	6447	3026
14055	D. Blanco	Chuña	Córdoba	493	6447	3026
14056	C. Colorado	Chuña	Córdoba	493	6447	3026
14057	C. Colorado	San Nicolás	Córdoba	740	6438	3128
14058	C. Colorado	San Marcos Sierra	Córdoba	689	6438	3047
14061	C. A. Anaranjado	San Marcos Sierra	Córdoba	689	6438	3047
14062	Pisingallo	Pampa de Olaen	Córdoba	950	6437	3110
14063	C. Colorado	Pampa de Olaen	Córdoba	950	6437	3110
14064	C. Colorado	Pampa de Olaen	Córdoba	950	6437	3110
14066	D. Blanco	Alta Gracia	Córdoba	550	6433	3140
14068	Pericario Rojo	Alta Gracia	Córdoba	550	6433	3140
14069	C. Colorado	Alta Gracia	Córdoba	550	6433	3140
14070	Pisingallo	Alta Gracia	Córdoba	550	6433	3140
14071	Pericario Rojo	Alta Gracia	Córdoba	550	6433	3140
14072	C. Colorado	Cañada El Tola	Córdoba	515	6435	3216
14073	C. Colorado	Arroyo San Antonio	Córdoba	875	6440	3219

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
14074	D. Blanco	Arroyo San Antonio	Córdoba	875	6440	3219
14075	C. Colorado	Arroyo San Antonio	Córdoba	875	6440	3219
14077	D. Blanco	Arroyo San Antonio	Córdoba	875	6440	3219
14078	A. Ocho Hileras	Arroyo San Antonio	Córdoba	875	6440	3219
14079	C. Colorado	Aguada de las Chacras	Córdoba	810	6459	3102
14080	No Clasificable	Aguada de las Chacras	Córdoba	810	6459	3102
14081	Pisingallo	Aguada de las Chacras	Córdoba	810	6459	3102
14082	Pisingallo	Aguada de las Chacras	Córdoba	810	6459	3102
14083	A. Ocho Hileras	Tala Cañada	Córdoba	1189	6459	3121
14084	A. Ocho Hileras	Tala Cañada	Córdoba	1189	6459	3121
14086	C. A. Anaranjado	Tala Cañada	Córdoba	1189	6459	3121
14087	D. Blanco	Sagrada Familia	Córdoba	893	6500	3121
14089	C. Colorado	Mina Clavero	Córdoba	900	6502	3144
14090	D. Blanco	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14092	A. Ocho Hileras	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14093	C. Colorado	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14094	D. Blanco	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14095	A. Ocho Hileras	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14096	A. Ocho Hileras	Piedras Blancas	Córdoba	900	6506	3149
14097	D. Blanco	Villa Cura Brochero	Córdoba	900	6501	3142
14098	C. Colorado	Villa Cura Brochero	Córdoba	900	6501	3142
14099	B. Ocho Hileras	Villa Cura Brochero	Córdoba	900	6501	3142
14100	C. Colorado	Nono	Córdoba	877	6500	3148
14101	C. Colorado	Mina Clavero	Córdoba	900	6502	3144
14102	Pericario Rojo	Mina Clavero	Córdoba	900	6502	3144
14103	C. Colorado	Mina Clavero	Córdoba	900	6502	3144
14104	C. Colorado	Nono	Córdoba	877	6500	3148
14105	C. Colorado	La Toma	Córdoba	826	6401	3012
14106	C. Colorado	San José de la Dormida	Córdoba	660	6356	3023
14107	C. Colorado	San José de la Dormida	Córdoba	660	6356	3023
14109	C. Colorado	La Toma	Córdoba	823	6401	3012
14110	C. Colorado	La Toma	Córdoba	823	6401	3012
14111	C. Colorado	San José de la Dormida	Córdoba	660	6356	3023
14112	C. Colorado	San José de la Dormida	Córdoba	660	6356	3023
14117	C. Colorado	Tulumba	Córdoba	650	6407	3024
14118	A. Moroti Ti	Mina Clavero	Córdoba	900	6502	3144
18001	C. Colorado	Cachirulo	La Pampa	152	6423	3645
18003	C. Colorado	General Pico	La Pampa	140	6347	3538
18004	C. Colorado	General Pico	La Pampa	140	6347	3538
18005	C. Colorado	General Pico	La Pampa	140	6347	3538
18006	C. Colorado	Metileo	La Pampa	137	6358	3545
18007	C. Colorado	Realicó	La Pampa	165	6415	3500
18008	C. Colorado	Ojeda	La Pampa	153	6400	3515
18009	C. Colorado	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18010	C. Colorado	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18011	C. Colorado	Pichi Huinca	La Pampa	244	6445	3536
18012	C. Colorado	Santa Teresa	La Pampa	198	6331	3740
18016	C. Colorado	Colonia Chica	La Pampa	380	6751	3756
18017	C. Colorado	Colonia Chica	La Pampa	380	6751	3756

Población	Forma Racial	Localidad	Provincia	Altitud	Longitud	Latitud
18018	A. Ocho Hileras	Pichi Huinca	La Pampa	244	6445	3536
18019	A. Ocho Hileras	Pichi Huinca	La Pampa	244	6545	3536
18020	A. Ocho Hileras	Santa Teresa	La Pampa	198	6331	3740
18021	A. Ocho Hileras	General acha	La Pampa	223	6436	3721
18022	No Clasificable	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18023	C. A. Anaranjado	Metileo	La Pampa	137	6358	3545
18025	Dulce	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18028	B. Ocho Hileras	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18029	B. Ocho Hileras	Colonia Santa Teresa	La Pampa	198	6331	3740
18030	B. Ocho Hileras	Colonia Santa Teresa	La Pampa	198	6331	3740
18035	C. Colorado	Cachirulo	La Pampa	152	6423	3645
18037	C. Colorado	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18040	A. Ocho Hileras	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18041	C. Colorado	Metileo	La Pampa	137	6358	3545
18044	C. Colorado	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18046	C. Colorado	Ojeda	La Pampa	153	6400	3715
18047	C. Colorado	Winifreda	La Pampa	169	6410	3610
18048	C. Colorado	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18049	C. Colorado	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18050	B. Ocho Hileras	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18051	A. Ocho Hileras	Trenel	La Pampa	179	6406	3539
18052	A. Ocho Hileras	Eduardo Castex	La Pampa	191	6419	3554
18053	A. Ocho Hileras	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18054	A. Ocho Hileras	Realicó	La Pampa	165	6415	3500
18055	D. Amarillo	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18056	D. Amarillo	Caleufú	La Pampa	206	6434	3534
18057	D. Amarillo	General Pico	La Pampa	140	6364	3538