

Caracterización agromorfológica y de calidad nutricional de poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, Argentina

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires,
Área Producción Vegetal*

Mónica Isabel Heck

Licenciada en Genética - Universidad Nacional de Misiones - 2006

Lugar de trabajo: INTA EEA Cerro Azul



FAUBA Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

DIRECTOR DE TESIS

Marcelo Edmundo Ferrer

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Tucumán)
MSc. (Universidad Nacional de Rosario)

CONSEJERO DE ESTUDIOS

Alfredo Gabriel Cirilo

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
MSc., Dr. (Universidad Nacional de Mar del Plata)

JURADO DE TESIS

JURADO

Lucas Borrás

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Dr. (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

María Laura Appendino

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
MSc. (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Leonor Gabriela Abeledo

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Dr. (Universidad de Buenos Aires)

Fecha de defensa de la tesis: 26 de mayo de 2016

DEDICATORIA

A mi mamá Mercedes

Quien con su amor y sacrificio logró
que conociera la importancia del
esfuerzo para alcanzar los sueños.

A Rubén y Ezequiel

Por estar a mi lado y enseñarme el
verdadero significado de la palabra
“Amar”

AGRADECIMIENTOS

Al INTA por brindarme la posibilidad de realizar mis estudios de postgrado y ofrecerme los medios necesarios para la realización de este trabajo de tesis. Agradezco a la EPG por facilitarme el espacio y darme la posibilidad de crecer académicamente.

A mi familia y amigos, por su constante apoyo. A mi mamá a la que le debo todo lo que soy, gracias por ayudarme, apoyarme y darme tanto cariño. Gracias por creer en mí. A Rubén por su amor y compañía incondicional. Te amo con todo el corazón.

A Raquel Defacio, quien me acompañó día a día en el desarrollo de este trabajo, siempre dispuesta a escucharme y ayudarme. No alcanzan las palabras para decirte lo que aprecio tus sugerencias, los conocimientos y experiencia transmitida, todo el tiempo que me dedicaste y me seguís dedicando, tus constantes palabras de aliento. Tus consejos han sido una guía invaluable para mí. Sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

A mis directores, Marcelo Ferrer y Alfredo Cirilo, por su acompañamiento constante, por la orientación y confianza brindada en cada momento. Por estar siempre dispuestos a una lectura crítica y aportar una nueva luz a los resultados. Han sido y serán para mí, un ejemplo de excelencia profesional y humana.

A Ana Rosa Schlatter y Carla Delucchi, por sus valiosos aportes metodológicos, sugerencias y análisis que resultaron claves para el desarrollo de esta tesis.

A mi equipo de trabajo, junto a ellos he aprendido a trabajar y ser parte de un equipo. A Adrián De Lucía, por su apoyo, confianza y amistad. Por su acompañamiento constante, por ayudarme a crecer en lo profesional y darme la confianza necesaria para lograrlo. A mis compañeros y amigos, Silvina Fariza, Jorge Blaschik y Belén Rossner por transmitirme su entusiasmo, por su predisposición a escucharme y ayudarme en lo que fuera necesario.

A Jorge, Rubén, Silvina, Adrián y al personal de apoyo de la experimental, por su ayuda indispensable para la siembra, mantenimiento y cosecha de ensayos utilizados en esta tesis.

A Martín Domínguez, Julia Fernández, Alicia Pereira, Javier Gilli, Clarisa Bernardi y Luciana Sequín por sus invaluable aportes en el área de la biotecnología, por transmitirme “tips” indispensables para el uso, manejo y el análisis de marcadores moleculares.

A la Dra. Sofía Olmos (EEA Pergamino), al MSc Julio Di Rienzo (Universidad Nacional de Córdoba), al Dr. Cosme Cruz (Universidad Federal de Viçosa, Brasil), al MSc. Diego Guerrero (EEA Cerro Azul) y a la Dra Mónica Aulicino (Universidad Nacional de Lomas de Zamora), por sus invaluable aportes en las áreas de la Biotecnología, Estadística y Genética.

A los productores y comunidades mbya por cedernos para su estudio las poblaciones locales de maíz evaluadas en el presente trabajo. Por la transmisión de conocimientos tradicionales vinculados con el uso, selección y conservación de estos recursos genéticos.

A los técnicos e investigadores de INTA, Wilfrido Martínez Duarte, Verónica Lamas, Eliseo Cornelius, Marcelo Mestres, por su colaboración en la recolección de muestras y visita a productores.

Al Banco de Germoplasma de Maíz de Pergamino y personal auxiliar por proveerme algunas de las muestras utilizadas en la presente tesis.

Al grupo de laboratorio de calidad de la EEA Pergamino, Abel Farroni y Mabel Percibaldi y sus ayudantes, por su contribución en el procesamiento de muestras y medición de los parámetros de calidad.

A la Ing. Mabel Correa por sus significativos aportes en el análisis estadístico.

Al equipo de Meteorología de la EEA Cerro Azul, en especial a José Olinuck, por proveerme de información meteorológica de la región.

Al equipo de Recursos Naturales de la EEA Cerro Azul, en especial a Bárbara Iwasita y Sebastián Bárbaro, por su importante contribución en la caracterización del suelo y los análisis químicos de las muestras remitidas.

A todos los que directa o indirectamente ayudaron en la construcción de este trabajo.

Muchas Gracias.

DECLARACIÓN

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Mónica I. Heck

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	xi
Índice de tablas	xiii
Abreviaturas	xv
Resumen	xvi
Abstract	xvii
Capítulo 1: Introducción general	
1.1 Antecedentes y problemática	2
1.1.1 Ubicación taxonómica, Origen y dispersión	2
1.1.2 Importancia y usos	3
1.1.3 El cultivo de maíz en ambientes marginales	3
1.1.4 Variabilidad genética, vulnerabilidad y erosión	4
1.1.5 Conservación de los Recursos Fitogenéticos	5
1.1.5.1 El manejo de la variabilidad por los agricultores	5
1.1.5.2 Importancia de la conservación en Bancos de Germoplasma	6
1.1.6 Caracterización de las poblaciones locales	7
1.1.7 El cultivo de maíz en la provincia de Misiones	8
1.2 Objetivos	10
1.3 Estructura de la tesis	11
Capítulo 2: Evaluación y caracterización agromorfológica de los materiales	
2.1 Introducción	13
2.2 Materiales y métodos	14
2.2.1 Material vegetal	14
2.2.2 Ensayos de evaluación	16
2.2.3 Caracteres y parámetros evaluados	17
2.2.3.1 Variables fenológicas	17
2.2.3.2 Variables morfológicas	19

2.2.3.3 Variables agronómicas	19
2.2.4 Análisis de datos agromorfológicos	21
2.2.4.1 Estadística descriptiva de las poblaciones	21
2.2.4.2 Evaluación de la variabilidad entre poblaciones	21
2.2.4.3 Estimación de los componentes de varianza y parámetros genéticos	22
2.2.4.4 Correlación entre caracteres agromorfológicos	24
2.3 Resultados	24
2.3.1 Ambientes de evaluación	24
2.3.2 Estadística descriptiva de las poblaciones	28
2.3.3 Evaluación de la variabilidad entre poblaciones	30
2.3.4 Estimación de los componentes de varianza y parámetros genéticos	32
2.3.5 Correlación entre caracteres agromorfológicos	34
2.4 Discusión	35
2.4.1 Ambientes de evaluación	35
2.4.2 Estadística descriptiva de las poblaciones	37
2.4.3 Evaluación de la variabilidad entre poblaciones	38
2.4.4 Estimación de los componentes de varianza y parámetros genéticos	39
2.4.5. Correlación entre caracteres agromorfológicos	40
2.5 Conclusiones	41
Capítulo 3: Análisis de la calidad nutricional de los materiales	
3.1 Introducción	44
3.2 Materiales y métodos	46
3.2.1 Material vegetal	46
3.2.2 Análisis de la calidad nutricional de los materiales	47
3.2.2.1 Obtención de muestras	47
3.2.2.2 Caracteres evaluados	48
3.2.2.2.1 Concentración de proteínas	49

3.2.2.2.2	Concentración de aceite	49
3.2.2.2.3	Concentración de almidón y amilosa	49
3.2.2.2.4	Perfil de ácidos grasos	50
3.2.2.3	Análisis de datos de calidad nutricional	50
3.2.3	Variabilidad genética del locus Opaco-2	50
3.2.3.1	Extracción de ADN genómico	50
3.2.3.2	Cuantificación de ADN	50
3.2.3.3	Loci evaluados	51
3.2.3.4	Amplificación por PCR	51
3.2.3.5	Visualización de los productos de amplificación	51
3.2.3.6	Análisis de datos moleculares	52
3.3	Resultados	53
3.3.1.	Ambiente de producción	53
3.3.2	Análisis de la calidad nutricional de los materiales	54
3.3.2.1	Concentración de proteína	54
3.3.2.2	Concentración de aceite	56
3.3.2.3	Concentración de almidón y amilosa	56
3.3.2.4	Perfil de ácidos grasos	57
3.3.2.5	Correlación entre caracteres de calidad nutricional	58
3.3.3	Variabilidad genética del locus Opaco-2	58
3.4	Discusión	61
3.4.1	Ambiente de producción	61
3.4.2	Análisis de la calidad nutricional de los materiales	62
3.4.2.1	Concentración de proteína	62
3.4.2.2	Concentración de aceite	63
3.4.2.3	Concentración de almidón y amilosa	64
3.4.2.4	Perfil de ácidos grasos	65

3.4.2.5 Correlación entre caracteres de calidad nutricional	67
3.4.3 Variabilidad genética del locus opaco-2	68
3.5 Conclusiones	70
Capítulo 4: Calificación de los materiales en base a caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional	
4.1 Introducción	73
4.2 Materiales y métodos	74
4.2.1 Clasificación de las poblaciones en función de caracteres agromorfológicos	74
4.2.2 Clasificación de poblaciones en base a caracteres de calidad nutricional	75
4.2.3 Clasificación de las poblaciones en base a caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional en forma conjunta	75
4.3 Resultados	76
4.3.1 Clasificación de las poblaciones en función de caracteres agromorfológicos	76
4.3.2 Clasificación de poblaciones en base a caracteres de calidad nutricional	80
4.3.3 Clasificación de las poblaciones en base a caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional en forma conjunta	83
4.4 Discusión	85
4.4.1 Clasificación de las poblaciones en función de caracteres agromorfológicos	85
4.4.2 Clasificación de poblaciones en base a caracteres de calidad nutricional	87
4.4.3 Clasificación de las poblaciones en base a caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional en forma conjunta	88
4.5 Conclusiones	90
Capítulo 5: Discusión general	
5.1 Síntesis de los resultados obtenidos	92
5.2 Conclusiones relevantes	93
5.3 Implicancias para futuras investigaciones	94
Capítulo 6: Bibliografía	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Sitios de colecta de las poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

Figura 2.2. Ambientes de evaluación.

Figura 2.3. Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo en el Ambiente I. Ventana de floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

Figura 2.4. Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo en el Ambiente II. Ventana de floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

Figura 2.5. Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo en el Ambiente III. Ventana de floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

Figura 2.6. Precipitaciones mensuales durante el ciclo del cultivo en el Ambiente IV. Ventana de floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

Figura 2.7. Temperatura media registrada en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

Figura 2.8. Temperatura máxima registrada en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

Figura 3.1. Técnica de cruzamientos controlados.

Figura 3.2. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo. Ventana floración de los materiales evaluados (celeste). Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

Figura 3.3. Temperatura media registrada en las campañas agrícolas 2009/10, 2010/11 y 2012/13. Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

Figura 3.4. Temperatura máxima registrada en las campañas agrícolas 2009/10, 2010/11 y 2012/13. Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

Figura 3.5. Patrón electroforético de los marcadores asociados al locus Opaco-2. A.- Tamaño (pb) de los alelos para el locus phi112 . B.- Separación de los productos de amplificación del locus umc1066. C.- Tamaño (pb) de los alelos del locus phi057 en la población P7.

Figura 3.6. Distribución de frecuencias alélicas de los marcadores asociados al locus Opaco-2 en las poblaciones locales de maíz y testigos evaluados. A.- Locus phi112. B.- Locus umc1066. C.- Locus phi057.

Figura 4.1. Análisis de Componentes Principales de variables agromorfológicas en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

Figura 4.2. Análisis de clúster para variables agromorfológicas en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, utilizando distancias Euclídeas y método de encadenamiento UPGMA.

Figura 4.3. Análisis de Componentes Principales para caracteres de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

Figura 4.4. Análisis de clúster para variables de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, utilizando distancias Euclídeas y método de encadenamiento UPGMA.

Figura 4.5. Análisis de Procrustes Generalizado. Representación puntos consenso entre caracterización cualitativa, cuantitativa (agromorfológica y de calidad) y molecular.

Figura 4.6. Análisis de Clúster para los valores consenso de la caracterización cualitativa, cuantitativa (agromorfológica y de calidad) y molecular, utilizando distancias euclídeas y el método de encadenamiento UPGMA.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Datos de pasaporte de las poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

Tabla 2.2. Datos relevantes de los testigos (Tipo, forma racial, fecha de ingreso a la provincia de Misiones).

Tabla 2.3. Variables cualitativas analizadas junto a su respectiva codificación.

Tabla 2.4. Variables cuantitativas analizadas junto a su correspondiente unidad de medida.

Tabla 2.5. Tabla de Análisis de la varianza a nivel de sitios.

Tabla 2.6. Tabla de Análisis de la varianza multifactorial.

Tabla 2.7. Características químicas del suelo en los cuatro ambientes de evaluación.

Tabla 2.8. Valores medios sobre el total de materiales y sobre el grupo de testigos, para cada variable y ambiente de evaluación.

Tabla 2.9. Valores medios, coeficientes de variación y rangos obtenidos para cada variable agromorfológica en todos los ambientes de evaluación.

Tabla 2.10. Variables fenológicas, morfológicas y agronómicas. Valores medios y rangos obtenidos sobre el total de materiales y sobre el grupo de testigos para cada variable en todos los ambientes.

Tabla 2.11. Test de Dunnett para la variable rendimiento.

Tabla 2.12. Análisis de la varianza individual para evaluar la significancia de los genotipos, a través de cada variable y ambiente de evaluación.

Tabla 2.13. Análisis de la varianza multifactorial para los caracteres agromorfológicos. Cuadrados medios (CM) y test de significancia.

Tabla 2.14. Magnitudes relativas de los componentes de varianza expresados como porcentajes de la varianza total. Parámetros genéticos: constancia (C) y heredabilidad (H^2).

Tabla 2.15. Matriz de correlaciones de Pearson para las variables agromorfológicas.

Tabla 3.1. Características relevantes de las líneas QPM.

Tabla 3.2. Características químicas del suelo del sitio de evaluación.

Tabla 3.3. Ubicación cromosómica (BIN), posición respecto al locus Opaco-2, motivo y secuencia de los cebadores asociados al locus Opaco-2.

Tabla 3.4. Concentración de proteína, aceite, almidón, amilosa, relación amilosa/almidón, de las poblaciones locales de maíz y testigos evaluados.

Tabla 3.5. Comparación de parámetros de calidad según tipo de endosperma.

Tabla 3.6. Composición de ácidos grasos (%) de poblaciones locales de maíz y testigos evaluados.

Tabla 3.7. Matriz de correlación de Pearson y niveles de significancia entre variables de calidad nutricional.

Tabla 3.8. Número de alelos (totales, promedio y efectivos), peso (en pb), frecuencia y Contenido de Información Polimórfica (PIC) de los 3 ssr asociados al locus Opaco-2 en los materiales evaluados.

Tabla 3.9. Rangos alélicos reportados para los marcadores SSR asociados al locus Opaco-2 en diferentes fuentes de germoplasma.

Tabla 4.1. Valores propios y proporción de varianza explicada en el análisis de Componentes Principales para los caracteres agromorfológicos de poblaciones locales de la provincia de Misiones.

Tabla 4.2. Correlación con las variables originales y proporción de la varianza explicada para cada variable original sobre los cinco primeros Componentes Principales en la caracterización agromorfológica de poblaciones locales de la provincia de Misiones.

Tabla 4.3. Media de los caracteres agromorfológicos para los cinco grupos resultantes de la clasificación.

Tabla 4.4. Análisis de Componentes Principales para caracteres de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones. Valores propios, proporción de la varianza explicada, correlación con las variables originales.

Tabla 4.5. Media de los caracteres cuantitativos (agromorfológicos y de calidad) para los cuatro grupos resultantes del Análisis de Procrustes Generalizado.

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
BAG	Banco Activo de Germoplasma	IN:SAT	Relación insaturados/saturados
QPM	Maíz de alta calidad proteica	ALM	Concentración de almidón
MO	Materia Orgánica	AMI	Concentración de amilosa
N	Nitrógeno	PRO	Concentración de proteína
P	Fósforo	ACE	Concentración de aceite
K	Potasio	PAL	Ácido palmítico
Ca	Calcio	EST	Ácido esteárico
Mg	Magnesio	AOL	Ácido oleico
Al	Aluminio	AL	Ácido linoleico
GDUF	Grados días a floración femenina	ALN	Ácido linolénico
GDUM	Grados días a floración masculina	No	Número de alelos observados
GDMF	Grados días a madurez fisiológica	Na	Número promedio de alelos
ASI	Sincronía floral	Ne	Número de alelos efectivos
ALTPL	Altura de planta	He	Heterocigocidad media esperada
ALTMZ	Altura de inserción de mazorca	PIC	Contenido de información polimórfica
INS	Relación ALTPL/ALTMZ	GxA	Interacción genotipo x ambiente
NH	Número de hojas	r	Correlación de Pearson
AHB	Área de hoja bandera	H²	Heredabilidad en sentido amplio
AHE	Área de hoja de la espiga	C	Constancia
LMZ	Longitud de la mazorca	V_A	Varianza ambiental
DMZ	Diámetro de la mazorca	V_B	Varianza de bloques dentro de ambientes
NHIL	Número de hileras	V_G	Varianza genética
GHIL	Número de granos por hilera	V_{GA}	Varianza de la interacción GxA
AGR	Ancho de grano	V_e	Varianza del error
LGR	Largo de grano	ACP	Análisis de Componentes Principales
GGR	Grosor de grano	CP	Componentes Principales
PROL	Prolificidad	ACOOOP	Análisis de Coordenadas Principales
P1000	Peso de mil granos	APG	Análisis de Procrustes Generalizado
REND	Rendimiento	MST	Árbol de mínima distancia
PMAR	Proporción de marlo	AMI/AL	Proporción amilosa-almidón
PORQ	Porcentaje de quebrado		
PORV	Porcentaje de volcado		

RESUMEN

Caracterización agromorfológica y de calidad nutricional de poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, Argentina

El maíz (*Zea mays* L.) presenta una gran diversidad de razas que pueden agruparse según sus características y usos diferenciales. La mayor parte del maíz sembrado en la provincia de Misiones corresponde a poblaciones locales, en las cuales el abandono de las tradiciones asociadas con su uso conduce a su erosión genética. La información acerca del comportamiento agronómico y características nutricionales de estos materiales es escasa. Con el objetivo de evaluar el potencial agronómico y nutricional de poblaciones de maíz de la provincia de Misiones, aportar al conocimiento de la diversidad genética, y contribuir a su conservación, revalorización y utilización, se estudiaron 16 poblaciones locales de diferente origen y fecha de colecta y 3 testigos comerciales exógenos utilizados en la región mediante descriptores agromorfológicos, de calidad nutricional y moleculares asociados al locus *Opaco-2* (se incluyeron 2 testigos QPM exógenos portadores del gen *opaco-2*). Los resultados obtenidos permitieron detectar la existencia de variabilidad agromorfológica, molecular y nutricional. La diversidad mostró diferencias en cuanto a su origen y momento de colecta, reflejando procesos de selección, sustitución y/o “contaminación” con materiales comerciales, realizando la importancia del uso de métodos que combinen la conservación de recursos genéticos “*in situ*” con aquella realizada en bancos de germoplasma. Se identificaron materiales con características sobresalientes para concentración de proteína, almidón, aceite y composición de ácidos grasos, así como poblaciones que igualaron y/o superaron el desempeño agronómico de los testigos. La detección de materiales de buen comportamiento agronómico y con características de calidad diferencial, demuestra el potencial genético presente en el germoplasma local, lo que permitirá su revalorización como recursos de uso directo por parte de las comunidades autóctonas y facilitará la selección preliminar para su utilización en programas de mejoramiento. Teniendo en cuenta que no existe información previa para estas variables en el germoplasma local, ni trabajos previos de selección para dichos caracteres, los resultados obtenidos proveen información valiosa para el diseño de estrategias de conservación y uso de los recursos genéticos locales.

Palabras clave: maíz, recursos genéticos, poblaciones locales, variabilidad, rasgos agromorfológicos, calidad nutricional, gen *opaco-2*.

ABSTRACT

Agromorphological and nutritional characterization of maize landraces from the province of Misiones, Argentina

Maize (*Zea mays L.*) has a wide variety of races grouped according to their characteristics and differential applications. Most of the maize sown in the province of Misiones corresponds to maize landraces, but the abandonment of the traditions associated with their use leads to their genetic erosion. Information about the agronomic performance and nutritional characteristics of these materials is scarce. In order to evaluate the agronomic and nutritional potential of local maize landraces, contribute to the knowledge of genetic diversity, conservation, valorization and utilization, 16 local landraces of different origin and date of collection and 3 exogenous commercial checks used in the region, were studied by agromorphological descriptors, nutritional quality and molecular markers associated with the Opaque-2 locus (2 testers QPM, carriers of the opaque-2 gene, were included). The results allowed us to detect the existence of agromorphological, molecular and nutritional variability. The diversity showed differences according to their origin and date of collection, reflecting processes of selection, substitution and/or "contamination" with commercial materials, highlighting the importance of using methods that combine the conservation of genetic resources "in situ" together with that carried out in genebanks. Some landraces with similar or superior agronomic performance with respect to testers, and some other landraces with outstanding features for protein, starch, oil and fatty acid composition were identified. Detection of materials with good agronomic performance and differential quality shows the genetic potential present in the local germplasm, will allow us its revaluation as resources for direct use by native communities and will facilitate the preliminary selection for use in breeding programs. Because there is no preceding information for the evaluated characters in the local germplasm nor previous selection work for these characters, the results shown herein provide valuable information for designing conservation strategies and use of local genetic resources.

Keywords: corn, genetic resources, landraces, variability, agromorphological traits, nutritional quality, opaque-2 gene

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. ANTECEDENTES Y PROBLEMÁTICA

1.1.1. UBICACIÓN TAXONÓMICA, ORIGEN Y DISPERSIÓN

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen y es la única especie cultivada de este género (Paliwal, 2001). Desde el punto de vista botánico se clasifica de la siguiente forma:

Grupo: *Fanerógamas*.

División: *Espermatófitas*.

Subdivisión: *Angiospermas*.

Clase: *Monocotiledóneas*.

Orden: *Glumifloras*.

Familia: *Gramineae*.

Tribu: *Maydeae*.

Género: *Zea*.

Especie: *Zea mays* L.

Evidencias arqueológicas y moleculares ubican el Centro de Origen de este cereal en el sur de México entre 6.600 y 9.000 años atrás (Piperno y Flannery 2001; Matsuoka *et al.*, 2002). Es en esta zona donde, además de existir una gran variabilidad genética, crecen espontáneamente sus parientes más cercanos, el Teosinte y *Tripsacum* (Luna *et al.*, 1964).

Su dispersión hacia América del Sur ocurrió a través de la actual República del Ecuador, generándose un centro de diversidad secundario en Perú-Bolivia. De esta manera, se distinguen dos centros de diversidad del maíz; uno localizado en el Centro de Origen que abarca Guatemala, Venezuela, América Central y sur de Estados Unidos y otro ubicado en Perú-Bolivia que da origen a los materiales que están presentes actualmente en Ecuador, Chile, Paraguay, Argentina y Brasil (Defacio, 2009).

Los maíces cultivados en Argentina proceden de diversos orígenes. El Noroeste (NOA) está representado principalmente por razas de textura harinosa que provendrían de la Meseta Peruano-Boliviana; las razas harinosas, reventadoras y dentadas del Noreste (NEA) que tendrían su origen en la zona costera de Brasil, dada la similitud racial presente en ambos sitios (Bracco *et al.*, 2012); y la Región Pampeana, con predominio de granos de textura cristalina colorada, con dos posibles orígenes: (i) Islas del Caribe, traídas al país por inmigrantes italianos y/o (ii) descendientes de maíces originarios de esta región. Diversos autores apoyan esta última teoría, basados en el escaso tiempo transcurrido desde la inmigración europea y la gran variabilidad y adaptación presente en estas razas. (Luna *et al.*, 1964; Safont Lis, 1971).

1.1.2. IMPORTANCIA Y USOS

Debido a su gran productividad y adaptabilidad, el maíz se extendió rápidamente a lo largo del planeta y hoy se cultiva en todos los continentes, ocupando el primer lugar en cuanto a producción total de cereales, superando al arroz y al trigo (FAOSTAT, 2015). La producción mundial de este cultivo alcanzó los 1016,7 millones de toneladas en el año 2013 (en 184 millones de hectáreas aproximadamente). La Argentina ocupó el cuarto lugar, después de los Estados Unidos, China y Brasil, con una producción de 32,1 millones de toneladas y una superficie de 4,86 millones de hectáreas. Años atrás nuestro país exportaba un 80% del maíz producido y sólo transformaba internamente el 20% restante. Hoy la demanda del mercado interno (industrias avícolas, ganaderas, lecheras, porcinas, molienda seca y húmeda) crece en forma acelerada y creció la proporción de la producción que es destinada al consumo interno (Gear, 2006).

Este cultivo presenta importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento para la población humana y el ganado o como insumo de un gran número de productos industriales. En la alimentación humana se utiliza el maíz dulce para consumo directo o procesado en forma de harina y aceites, siendo la base energética de muchos países de América Latina y África. Para la nutrición animal, el maíz puede ser utilizado bajo las formas de silo (planta entera o grano húmedo), harinas, gluten feed, gluten meal o grano entero, partido o molido (Depetris y Santini, 2006). En países desarrollados, cerca del 60% de la producción de maíz se destina para la elaboración de piensos compuestos para aves de corral, cerdos y rumiantes (Martínez Cruz, 2011). A partir de la molienda en seco se obtienen dos subproductos; el germen y la cubierta seminal. Del primero se extrae aceite comestible de elevada calidad, en tanto que el segundo se emplea como alimento o fuente de fibra dietética (Alvarez, 2006; Martínez Cruz, 2011). En el sector industrial se lo utiliza para la extracción de almidón, dextrina, azúcar, aceite, furfural, acetona y alcohol (Robutti, 2004; Alvarez, 2006; Gear, 2006; Defacio, 2009). A partir de la fermentación del maíz se obtiene etanol y algunas bebidas alcohólicas (Gear, 2006). Los residuos de la planta son utilizados como alimento para animales y para la extracción de diversos productos químicos, tales como furfural y xilosa, además de devolver materia orgánica al suelo en forma de rastrojos de la cosecha (FAO, 1993).

1.1.3. EL CULTIVO DEL MAÍZ EN AMBIENTES MARGINALES

Este cereal es cultivado en una gran diversidad de ambientes y sistemas de producción, incluyéndose entre ellos aquellos que utilizan métodos intensivos, mecanizados, de altos niveles de insumos así como aquellos sistemas agrícolas tradicionales de subsistencia, en pequeñas parcelas usando solo el trabajo manual. Los materiales genéticos utilizados en cada caso son muy diferentes. En Argentina, hay un predominio de híbridos combinados con alta tecnología en la región Pampeana, mientras que en la región Andina, Noroeste y Noreste se cultivan casi exclusivamente variedades locales en sistemas de bajos insumos (Ferrer, 2009).

Los materiales mejorados han tenido escaso desarrollo y difusión en los ambientes marginales (Ceccarelli *et al.*, 1996; Brush y Meng, 1998; Atlin *et al.*, 2001; Ceccarelli y Grando, 2003) debido a que requieren de condiciones altamente favorables para su desarrollo (mecanización, provisión de riego, aplicación de altas dosis de fertilizantes, control químico de malezas y pestes), los cuales están ausentes en los contextos agroecológicos de la mayoría de los pequeños productores de ambientes

marginales (Wander, 2003; Rincón *et al.*, 2006). Por otra parte, las estrategias de mejoramiento utilizadas no han sido las adecuadas para estos ambientes. En general, los esfuerzos de mejora genética han sido planificados y ejecutados en base a las tecnologías desarrolladas por los investigadores para áreas más uniformes y productivas de las áreas templadas, que difícilmente contemplan los problemas reales de estos sitios (Paliwal, 2001). En estos ambientes, las condiciones son más adversas, los problemas son más numerosos y complejos y los factores socioeconómicos y de infraestructura son más desfavorables que los de regiones templadas. La combinación de elevados valores de temperatura y humedad relativa crean condiciones altamente favorables para la proliferación y desarrollo de numerosos hongos, bacterias, insectos, plagas y malezas (National Academy of Sciences, 1993). Además, una alta proporción de los suelos de las regiones tropicales presentan marcadas limitaciones para la agricultura, tales como baja fertilidad, problemas de acidez y/o relieve. Todo esto, sumado a la imprevisibilidad de las condiciones climáticas, la variabilidad entre años y sitios constituyen grandes desafíos para los mejoradores en el desarrollo de materiales que se adapten a estos ambientes marginales (Paterniani, 2001).

1.1.4. VARIABILIDAD GENÉTICA, VULNERABILIDAD Y EROSIÓN

La diversidad genética permite a las especies adaptarse a ambientes cambiantes, incluyendo nuevas condiciones climáticas, plagas y enfermedades (Byerlee, 1996; Ceccarelli, *et al.*; 1996; Hammer y Teklu, 2008). Los sistemas agrícolas ancestrales se caracterizan por presentar una gran diversidad en tiempo y espacio, utilizan numerosas poblaciones de variedades tradicionales altamente adaptadas y plantas silvestres relacionadas con los cultivos (Montecinos y Altieri, 1992). Esto les permite disminuir el riesgo de una pérdida total del cultivo debido a una drástica variación ambiental (Chahal y Gosal, 2002; Ceccarelli y Grando, 2003). En cambio, el mejoramiento convencional genera principalmente unas pocas variedades que se adaptan muy bien a condiciones ambientales particulares pero que, al poseer una base genética restringida, son vulnerables a los cambios que se producen en el medio ambiente (Solari y Gómez, 1997).

El maíz presenta elevada variabilidad genética, contenida en sus numerosas razas locales (variedades nativas, variedades locales, variedades criollas, variedades tradicionales, variedades de los agricultores o poblaciones locales). Estas tienen gran adaptación al ambiente en el que se desarrollaron y una gran heterogeneidad que les confiere estabilidad productiva (Esquinas Alcazar, 1987) constituyendo un banco irremplazable de genotipos altamente co-adaptados (Lucchin *et al.*, 2003; Okumus, 2007; Defacio, 2009; Mercer y Perales, 2010). Su valor potencial reside en genes de resistencia a enfermedades y plagas, calidad nutritiva y adaptación a condiciones ambientales cambiantes (Ruiz de Galarreta Gómez, 1993; Araujo y Nass, 2002).

La diversidad genética dentro de las especies ha ido decreciendo a una tasa alarmante como consecuencia de los cambios climáticos, desmontes, sistemas ganaderos intensivos, sistemas de agricultura y uso de híbridos modernos (Wood y Lenne, 1997; Lucchin *et al.*, 2003; Lobo Arias y Medina Cano, 2009). Conforme la nueva semilla producida por mejoramiento convencional e ingeniería genética reemplace a las antiguas variedades tradicionales y a sus parientes silvestres, se acelerará la erosión genética (Solari y Gómez, 1997; Ferrer y Clausen, 2001; Eyherabide, 2004; Rincón *et al.*, 2006; Defacio, 2009). De este modo, la presión por la uniformidad no sólo destruirá la diversidad de los recursos genéticos, sino que también

romperá la complejidad biológica que condiciona la sustentabilidad de los sistemas agrícolas tradicionales (Altieri y Nicholls, 2000; Lobo Arias y Medina Cano, 2009).

En la historia se han registrado numerosos casos que mostraron las consecuencias catastróficas que ha tenido el empleo de unas pocas variedades uniformes y con estrecha base genética. En 1840, un ataque de tizón (*Phytophthora infestans*) provocó la pérdida total del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L) en Irlanda; el problema fue solucionado al detectar genes de resistencia en cultivares primitivos y especies silvestres emparentadas (Defacio, 2009). En 1970 se produjo la destrucción a gran escala del cultivo de maíz en USA provocada por un ataque de tizón (*Helminthosporium maydis*). Toda la semilla híbrida utilizada provenía de la misma fuente citoplasmática, la que era susceptible a dicha enfermedad (Chahal y Gosal, 2002). Este y otros casos llevaron a una toma de conciencia del estrechamiento que estaba sufriendo la base genética de las especies cultivadas, de manera que se iniciaron esfuerzos de conservación para evitar, en la medida de lo posible, el proceso de erosión genética (López Díaz, 2009).

1.1.5. CONSERVACIÓN DE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS

Existen dos estrategias básicas para la conservación de la diversidad genética. La conservación *ex situ* o en bancos de germoplasma, se enfoca en la preservación de la variabilidad genética existente de las especies fuera de su ambiente natural, para su uso actual y/o futuro (Maxted, 2001, Dullo *et al.*, 2010), mediante la conservación de la mayor cantidad de genes posibles, disminuyendo o evitando alteraciones de la estructura genética del material conservado (Ferrer *et al.*, 1991). El mantenimiento de la diversidad genética en finca o “*in situ*” permite la conservación de los organismos dentro del ecosistema del que forman parte, preservando cada uno de sus componentes e interrelaciones y permitiendo la continuidad de los procesos evolutivos (Jarvis *et al.*, 2000). La viabilidad de este sistema de conservación dependerá del grado de utilización y valoración de estos recursos por parte de los agricultores (Maxted, 2001; Martínez Cruz, 2011). Estas dos estrategias de conservación deben ser consideradas métodos complementarios y no excluyentes que comparten un mismo objetivo, la preservación de los recursos genéticos (Jarvis *et al.*, 2000; Rice, 2004).

1.1.5.1. El manejo de la variabilidad por los agricultores

La conservación *in situ* es considerada como un proceso dinámico que se encuentra en manos de los agricultores. En estos sistemas, una variedad es un sistema genético abierto, lo que contrasta significativamente con el concepto de variedad estable, distinta y uniforme, que se maneja en el ámbito científico (Jarvis *et al.*, 2000).

En el proceso de siembra, manejo, cosecha y almacenamiento de los cultivos, los agricultores toman decisiones que afectan la diversidad genética de los mismos. Cada una de estas decisiones está basada en un complejo conjunto de factores ambientales y socioeconómicos (Jarvis y Hodgkin, 2000). Las practicas de manejo incluyen la siembra de numerosas poblaciones de maíz en un área pequeña. En general, las semillas provienen de mazorcas seleccionadas en el ciclo previo u obtenidas localmente de familiares, amigos u otras personas de la comunidad (Almekinders *et al.*, 1994, Pressoir y Berthaud, 2004). El intercambio es un elemento importante, ya que permite incorporar nueva diversidad genética, además de proporcionar acceso a la semilla cuando el almacenamiento en la finca no fue posible o la calidad de la misma se ha deteriorado

(Almekinders y Elings, 2001). Por otra parte, los agricultores son profundamente curiosos y abiertos a la prueba de otras variedades. De esta manera la composición genética de una variedad es variable en el tiempo, algunos lotes desaparecen al no ser sembrados, otros pueden dar origen a varios por intercambio de semillas y un lote introducido puede pasar a ser parte de otra variedad local (Louette, 1994). Esto determina cambios en la estructura genética de los cultivos ya sea por el influjo de nuevas semillas (migración) y/o por reducción de la semilla guardada (cuellos de botella). A su vez, las prácticas de manejo, las condiciones microambientales del sitio de siembra y la selección de plantas por caracteres agromorfológicos deseados, pueden influir sobre la supervivencia de ciertos genotipos y modificar la composición genética de una variedad (Jarvis y Hodgkin, 2000).

1.1.5.2. Importancia de la conservación en Bancos de Germoplasma

Los Bancos de Germoplasma y colecciones de recursos fitogenéticos representan las reservas genéticas de nuestras plantas cultivadas. Su función principal es asegurar la conservación de los recursos fitogenéticos y facilitar el acceso a los mismos. En la Argentina, el INTA posee una Red de Bancos de Germoplasma (RBG) distribuidos en diversas áreas del país. El Banco Activo de Maíz se encuentra localizado en la EEA Pergamino, cuenta con 2.584 accesiones representativas de la diversidad del cultivo (Clausen *et al.*, 2008). A su vez, el Laboratorio de Recursos Genéticos Vegetales Vavilov (UBA) alberga cerca de 500 entradas de maíces y porotos procedentes del NOA y NEA (Clausen *et al.*, 2008).

Los Programas de Mejoramiento tienen como objetivo la generación de materiales superiores a los existentes, ya sea en productividad, calidad, resistencia y/o tolerancia a factores bióticos o abióticos (Clausen *et al.*, 2008). Por lo general, estos programas utilizan los cruzamientos entre materiales élite para generar variabilidad, lo que si bien es efectivo a corto plazo, genera un estrechamiento de la base genética, acotando la ganancia obtenida en ciclos posteriores de selección (Eyherabide, 2003; López *et al.*, 2005). La utilización de variedades locales que presentan una gran adaptación a los ambientes naturales y antropológicos en los que han evolucionado, constituyen una fuente potencial de nuevos genes que permitirán aumentar la variabilidad en los programas de mejoramiento (Lucchin *et al.*, 2003).

Numerosos trabajos ilustran la importancia de la utilización de las variedades locales en estos programas. Presello *et al.* (1996), al evaluar 443 poblaciones locales argentinas, detectaron genes de resistencia al virus del Mal de Rio Cuarto, señalando que la aparición de la enfermedad pudo estar relacionada con el reemplazo de poblaciones locales resistentes al virus por híbridos susceptibles introducidos desde Estados Unidos. En otros estudios, el mismo autor encontró 5 poblaciones resistentes a Fusariosis de la espiga (*Fusarium verticilloides* y *F. graminearum*) al evaluar 216 poblaciones locales (Presello *et al.*, 2006). Rodríguez *et al.* (2007) lograron identificar germoplasma base promisorio a bajas temperaturas en 9 poblaciones españolas. Nass y Coors (2003), al evaluar la introgresión de germoplasma latinoamericano proveniente del GEM (Germplasm Enhancement of Maize) en germoplasma de USA, detectaron numerosos cruzamientos con capacidad para aumentar los rendimientos y calidad del silaje. Y Salhuana *et al.* (1998) al evaluar los cruzamientos de 69 poblaciones selectas del LAMP (Latin American Maize Project) con dos probadores provenientes de Estados Unidos, pudieron identificar germoplasma con un desempeño igual o superior a los testigos.

1.1.6. CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES LOCALES

La responsabilidad de los Bancos de Recursos Genéticos es conservar y brindar a los fitomejoradores el germoplasma caracterizado y evaluado para el mejor uso de la diversidad (Solari y Gómez, 1997). Los bancos de germoplasma contienen una enorme cantidad de entradas, pero aún sigue faltando un conocimiento agronómico y genético más consistente de estas colecciones, lo que supone una seria limitación para su utilización, manejo y conservación (Nass *et al.*, 1993; FAO, 1996; Tripp y Van der Heide, 1996; Abadie y Beretta, 2001; Lucchin *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2004).

Los estudios de variabilidad genética se han realizado, en mayor medida, a través de descriptores morfológicos, fisiológicos y agronómicos, los cuales han resultado de mucha utilidad para caracterizar el germoplasma ya que permiten medir de manera más simple las diferencias entre poblaciones, como también las características potenciales de las mismas para su uso en programas de mejoramiento (Ruiz de Galarreta Gómez, 1993; Sinobas y Diaz, 1999; Defacio *et al.*, 2005; Gonzalez Huerta, *et al.*, 2006; Defacio, 2009).

La caracterización de poblaciones locales y materiales de mejoramiento en base a sus atributos de calidad está cobrando importancia (Robutti *et al.*, 2000; Méndez Montealvo *et al.*, 2005, Jiang *et al.*, 2007; Lorea *et al.*, 2007; Narváez González *et al.*, 2007; Vidal Martínez *et al.*, 2008; Teixeira Barbosa Pinto *et al.*, 2009). Esto se debe a una tendencia hacia la producción de materiales con características de calidad diferenciada para satisfacer los variados aspectos de la demanda (Robutti, 2004). Debido a su gran diversidad genética, los maíces no tienen la misma constitución química y presentan diferencias en sus propiedades y en su utilización final (Méndez Montealvo *et al.*, 2005). La calidad del grano del maíz depende de su constitución física, que determina la textura y dureza; y de su composición química, que define el valor nutricional (Díaz Coronel *et al.*, 2009).

Como todos los cereales, el maíz es rico en carbohidratos y desequilibrado en proteína, vitaminas y minerales. Es un alimento de alto valor energético pero de bajo tenor de proteína que, al estar principalmente constituida por zeínas, es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (Díaz Coronel *et al.*, 2009). De esta manera, resulta indispensable contar con variedades de maíz con un mejor perfil proteico para comunidades con una fuerte dependencia de este cereal como alimento básico. Al ser identificadas varias mutaciones naturales que confieren mayores niveles de lisina y triptófano, se pudieron iniciar programas tendientes a mejorar estas características. Una variante genética que se encuentra asociada a una mayor calidad de la proteína en grano es el alelo recesivo del locus Opaco-2 (O2, GRMZM2G015534) ubicado en el cromosoma 7 de maíz (<http://ensembl.gramene.org/>). Estudios previos muestran que el maíz homocigoto respecto a la mutación recesiva o2 (opaco-2) tiene un contenido considerablemente mayor de lisina y triptófano que el maíz heterocigoto (O2o2) u homocigoto dominante (O2O2) para dicho locus (Wang y Larkins, 2001; Huang *et al.*, 2006; Gutiérrez-Rojas *et al.*, 2008; Vivek *et al.*, 2008), aunque dicho incremento está relacionado fuertemente con el fondo genético (Wang y Larkins, 2001, Corcuera, 2012). Existen tres marcadores moleculares microsatélites (Simple Sequence Repeats, SSR, por su sigla en inglés) disponibles para la selección del alelo recesivo del gen, estos son: phi057, phi112 y umc1066. Estos tres marcadores se encuentran dentro del locus Opaco-2, lo que significa que existe una correlación muy alta entre la presencia de

ciertas variantes de los marcadores y la expresión fenotípica del alelo recesivo (Dreher *et al.*, 2003; Vivek *et al.*, 2008; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2009).

En cuanto a la composición de aceite, el maíz presenta bajos contenidos de ácidos grasos saturados (palmítico y esteárico) en comparación con los ácidos grasos no saturados, como el oleico y el linoleico, que representan la mayor parte de los lípidos contenidos en el grano de maíz. El ácido linoleico es uno de los ácidos grasos esenciales en la nutrición humana, forma parte de un grupo de compuestos bioactivos asociados a los lípidos, todos ellos relacionados con nutrición y salud, varios de los cuales se encuentran en niveles variables en el maíz (Paredes López *et al.*, 2009). En numerosos estudios se ha encontrado una gran variación en cuanto a la composición de ácidos grasos en germoplasma adaptado y exótico, de manera que sería posible desarrollar aceites especiales de maíz, cada uno con un patrón único de ácidos grasos (Pollak y Scott, 2005).

El principal componente del grano de maíz es el almidón (cerca al 70 por ciento), que en un maíz normal está formado por aproximadamente 27 % de amilosa y 73 % de amilopectina (Paredes López *et al.*, 2009). Existen genes que alteran la proporción de estos polímeros (genes *waxi* y *amilose extender*) que modifican el grado de ramificación del almidón y por tanto originan variaciones en sus propiedades funcionales y en sus espectros de usos (Robutti *et al.*; 2000; Robutti, 2004). Otro objetivo importante del mejoramiento es el aumento de almidón extraíble durante la molienda húmeda. En estudios previos se ha encontrado que, en general, las poblaciones exóticas presentan menor cantidad de almidón, mayor contenido de proteínas y aceites (lo que lleva a un menor rendimiento de molienda) comparados con híbridos comerciales, aunque se han detectado variaciones entre poblaciones (Singh *et al.*, 2001). Además, numerosos estudios han mostrado variación significativa en propiedades térmicas y funcionales del almidón (Li *et al.*, 1994; Seetharaman *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2001).

1.1.7. EL CULTIVO DE MAÍZ EN LA PROVINCIA DE MISIONES

La provincia de Misiones presenta un contexto productivo, socioeconómico y ambiental que lo diferencia claramente del resto del país. El clima es subtropical húmedo, con temperaturas medias anuales de 21,5 °C, presencia de heladas invernales y precipitaciones relativamente isohigras del orden de los 1.800 mm anuales (INTA, 2006). Tiene una superficie con topografía muy accidentada, con distintos tipos de suelos de tipo laterítico (rojos subtropicales y tropicales), detectándose suelos rojos profundos en las mesetas y laderas y suelos rojos toscos en laderas, valles y cerros, con predominancia de éstos últimos (INDES, 2006). La producción agropecuaria se desarrolla principalmente en explotaciones pequeñas de 10-25 hectáreas (41,7%) con un alto grado de diversificación. Orientadas al mercado, estas unidades productivas venden materia prima a agroindustrias (yerba mate, té, tabaco, madera) en condiciones y precios que condicionan sus posibilidades de capitalización (INTA, 2006). En general, los sistemas productivos son de poca inversión tecnológica, centrados en la utilización intensiva de mano de obra familiar y combinados con el uso inadecuado de los recursos naturales (INDES, 2006). El contexto socioeconómico de los productores los lleva a buscar alternativas de producción, comercialización y organización para hacer frente a un sistema que presenta pocas posibilidades de permanencia si no se cuentan con las ventajas competitivas requeridas por el mercado. Las ferias francas y de semillas son una buena opción para la economía familiar y se han convertido en un espacio de

articulación, reflexión y capacitación en el ámbito local y provincial (Miño y Scalerandi, 2005).

De las 770.000 has destinadas a la producción agrícola, 47.000 has corresponden a cereales y oleaginosas (PROSAP, 2009). Los agricultores cultivan el maíz para el autoconsumo en pequeñas explotaciones (menor a 25 has.), bajo condiciones ambientales difíciles (imprevisibilidad de las condiciones climáticas, presión de enfermedades, plagas y malezas) y sin la utilización de insumos químicos, tecnología e infraestructura que les permitan alcanzar una mayor productividad (INDES, 2006). La producción se destina básicamente al autoconsumo y muy poco, para la venta. La mano de obra es familiar y el grado de mecanización es muy bajo al igual que el uso de insumos químicos. La preparación del suelo es mínima, se utiliza el arado con bueyes y azadón y se siembra manualmente o con “taca-taca” (herramienta rudimentaria traída de Brasil). Las variedades locales de maíz presentan una gran relevancia socioeconómica y una gran difusión en los sistemas agrícolas familiares y comunidades indígenas de la región. La mayor parte del maíz que se siembra en la provincia de Misiones corresponde a poblaciones locales, de diferentes tipos de textura, formas y color, que se adaptan a una gran variedad de situaciones ecológicas y que satisfacen las necesidades y hábitos de alimentación de la población. La utilización de semilla mejorada es incipiente, limitándose a materiales traídos de otras regiones (híbridos brasileños y/o variedades desarrolladas para el NOA) que no necesariamente se adaptan a las condiciones locales y en general corresponden a materiales de tipo duro, que sirven para uso industrial, como alimento balanceado, pero no para la alimentación humana.

Las poblaciones locales de maíz procedentes de “pueblos originarios”¹ y aquellas pertenecientes a los “pequeños productores”², reflejan claras diferencias fenotípicas. Estas diferencias se asocian principalmente al objetivo de selección. En los pueblos originarios, el mismo está asociado al rol central que cumple el maíz en la alimentación y la cultura religiosa de estas comunidades, donde cada color de grano tiene un uso y manejo diferente y la selección está centrada en mejorar las características que lo hacen valioso para ese destino específico. En tanto que para los pequeños productores de la región, el maíz permanece como un elemento esencial de la agricultura familiar, con un destino fuertemente orientado hacia la alimentación animal y en menor medida para el consumo humano en forma de harinas y/o choclo. En estos sistemas cobran importancia los atributos asociados con el rendimiento, pero también aquellos relacionados a la resistencia al ataque de plagas postcosecha y usos específicos.

El maíz sigue cumpliendo un rol importante en la alimentación y manteniendo su importancia como elemento ritual y festivo de las comunidades originarias. Las comidas tradicionales con base de maíz han tenido gran influencia en el mantenimiento

¹ Pertenecen a la etnia Mbya-Guaraní, son pueblos muy antiguos que ingresaron al territorio provincial y se establecieron en las tierras que ocupan alrededor de 1870. Cazadores, recolectores y pescadores, herederos del tronco agricultor guaraní, cultivan maíz, mandioca, batata, zapallo, porotos, frutales (Golluscio, 2008)

² En la provincia de Misiones existen según el CNA 2002 unas 28.000 explotaciones agropecuarias, de las cuales el 80 % son pequeños productores que emplean un sistema productivo diversificado. Los cultivos de renta son el tabaco (1-2 ha), yerba y te (2-10 ha), forestales (1-2 ha), caña de azúcar (1-4 ha). Para autoconsumo se destinan 2 -3 ha (poroto, soja, mandioca, maíz, horticultura y frutales). La mano de obra es familiar, mayormente se hace uso de tracción animal y pocos poseen mecanización, limitando la superficie a explotar (Plan de Tecnología Regional, 2009-2012).

a través del tiempo de la gran variedad de formas de este cereal (Cámara Hernández y Arancibia de Cabezas, 2007). Pero esta situación podría cambiar si no hay acciones encaminadas a apoyar la agricultura de autoconsumo a través de políticas públicas (Bravo, 2004) que permitan incentivar a los productores a valorar la importancia de los recursos genéticos que tienen y conservan. Las prácticas de alimentación se mantienen a pesar de que el cultivo ha dejado de ser el elemento central de la dieta, pues poco a poco ha sido reemplazado con cereales foráneos, variedades mejoradas y otros productos naturales y manufacturados utilizados en lugar del maíz, con mayores ventajas o gusto por los pobladores modernos (Bravo, 2004; Cámara Hernández y Arancibia de Cabezas, 2007). Es importante tener en cuenta que las costumbres y tradiciones asociadas al uso de estos maíces se van perdiendo paulatinamente y, de esta manera, las variedades tradicionales por falta de cultivo podrían desaparecer en un futuro no muy lejano.

Teniendo en cuenta la importancia que revisten estos materiales en el contexto productivo de la provincia y el panorama global de erosión genética de estos recursos, diferentes instituciones a nivel nacional (INTA y la UBA) y provincial (Ministerio del Agro, ONG y otras organizaciones) llevaron a cabo iniciativas tendientes a rescatar, conservar y multiplicar estos materiales (INDES, 2008). El Banco Activo de Germoplasma de Maíz (EEA INTA Pergamino) cuenta con 125 accesiones de maíz recolectadas en expediciones realizadas en la provincia en el año 1977. Estas iniciativas han permitido catalogar los materiales recolectados y clasificarlos racialmente (Solari y Gómez, 1997). Por su parte, las comunidades y organizaciones locales están llevando a cabo acciones tendientes a la defensa y recuperación de los recursos genéticos. Para ello realizan prácticas de conservación, manejo e intercambio de semillas criollas, además de talleres de recuperación de la alimentación tradicional y conocimientos culinarios.

En las últimas décadas ha ocurrido una marcada erosión genética del cultivo de maíz en el Noreste argentino. No obstante, aún se conservan en las poblaciones locales actuales valiosos atributos para su uso directo por parte de las comunidades autóctonas, o bien como insumo para el desarrollo de materiales mejorados para la región. Dentro de la variabilidad genética existente en las poblaciones locales de Misiones, consecuencia del uso ancestral, el intercambio de semillas, la migración génica exógena, es posible encontrar poblaciones que superan en producción, adaptación y calidad del grano a las variedades mejoradas exógenas, con aptitud para ser incorporadas en programas de mejoramiento específicos.

El rescate, conservación y, sobre todo, la caracterización de estos materiales en las condiciones ambientales de la provincia son fundamentales ya que permitirán determinar las características de las poblaciones locales, así como el estado y evolución de la diversidad genética del cultivo en la región, generando información, herramientas y capacidades sobre el manejo, conservación, aprovechamiento y valoración de las mismas.

1.2. OBJETIVOS

Caracterizar las poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones en búsqueda de caracteres agronómicos y de calidad nutricional útiles tanto para el desarrollo de materiales mejorados para la región como para la generación de estrategias de conservación y manejo de los Recursos Genéticos locales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el desempeño agronómico de poblaciones locales de maíz en el contexto ambiental y productivo de la provincia de Misiones.
- Estimar los componentes genético y ambiental de la variabilidad fenotípica observada, calcular los parámetros genéticos y las correlaciones fenotípicas para caracteres agromorfológicos.
- Evaluar la calidad nutricional de poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.
- Evaluar la variabilidad genética del locus Opaco-2 en poblaciones locales de maíz.
- Agrupar las poblaciones locales evaluadas por métodos de taxonomía numérica.
- Caracterizar y elegir las variables agromorfológicas y de calidad nutricional que mejor explican la variación existente.
- Evaluar la diversidad genética de las poblaciones locales de maíz colectadas.
- Identificar poblaciones o grupos de poblaciones con valor promisorio para el mejoramiento y/o uso directo.

1.3. ESTRUCTURA DE LA TESIS

La tesis consta de un capítulo de introducción (Capítulo 1), tres capítulos centrales de resultados (Capítulos 2 a 4), un capítulo de discusión general (Capítulo 5) y un capítulo final en el que se enumera la bibliografía utilizada (Capítulo 6). En el Capítulo 1 se hace una descripción general de la temática a explorar a lo largo de la tesis y se definen los objetivos de la misma, detallándose la importancia del cultivo de maíz a nivel mundial y regional, la relevancia de la variabilidad genética y la conservación de los recursos genéticos locales. Los resultados del trabajo se centran en la caracterización y evaluación de la diversidad genética existente en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones a través de caracteres agromorfológicos (Capítulo 2) y de calidad nutricional (Capítulo 3) y su clasificación a través de métodos de taxonomía numérica (Capítulo 4). Para finalizar se discute de manera integrada los hallazgos más relevantes de la tesis (Capítulo 5), se presentan las conclusiones generales y se definen los aportes y futuras investigaciones que surgen del trabajo.

CAPITULO 2

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE LOS MATERIALES

2.1. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays*, L.) juega un papel central en la agricultura debido a su gran adaptación a distintas condiciones ambientales, su resistencia a plagas y enfermedades (Ruiz de Galarreta Gómez, 1993; Araujo y Nass, 2002) y sus múltiples aplicaciones alimenticias e industriales (Martínez Cruz, 2011; Singh *et al.*, 2014).

El maíz es considerado el cereal con el mayor rendimiento en grano por hectárea y con la mayor producción total mundial (FAOSTAT, 2015), sin embargo los rendimientos obtenidos en ambientes marginales son muy bajos. El aumento de la productividad puede ser alcanzado a través del uso de técnicas modernas de producción, como la adopción de variedades mejoradas, la aplicación de productos químicos y fertilizantes (Bellon y Hellin, 2011; Schroeder *et al.*, 2013), y el ajuste de prácticas de manejo tales como la definición de la fecha de siembra y la densidad. Sin embargo, el grado de adopción de dichas técnicas a nivel de la pequeña agricultura familiar es limitado (Brush y Meng, 1998). Esto se relaciona con los altos costos asociados, la falta de capital, la escasez de cultivares mejorados adaptados a estos contextos productivos, la dificultad en el acceso a los mercados, el desconocimiento y desconfianza de la calidad de las variedades existentes (Bellon y Hellin, 2011; Schroeder *et al.*, 2013). Además, en muchos casos los híbridos comerciales no cumplen con las expectativas de los agricultores en términos de seguridad alimentaria, ya que si bien el rendimiento es una característica importante en la elección varietal, no es la única y no siempre es la más importante. Otros factores como la estabilidad de producción, la adaptación a diferentes zonas agroclimáticas y características de calidad específicas resultan muy valiosos en estos contextos productivos (Brush y Meng, 1998; Perales *et al.*, 2000; Mwololo, 2010).

Con el advenimiento de la agricultura moderna la enorme diversidad genética de razas locales han sido sustituidas por un pequeño número de materiales comerciales con mayores rendimientos pero más uniformes genéticamente (Granados Sánchez *et al.*, 2009; Berretta *et al.*, 2010). Actualmente, los cambios en los sistemas productivos, la desaparición de miles de familias de pequeños agricultores del campo, la pérdida de costumbres y tradiciones asociadas al uso de estos maíces ponen en serio peligro la conservación de estos valiosos recursos genéticos (Berretta *et al.*, 2010; Bracco *et al.*, 2012). Esto genera graves consecuencias sobre la producción agropecuaria y la seguridad alimentaria al incrementar la vulnerabilidad de los cultivos debido a una menor plasticidad y capacidad de respuesta a cambios bióticos y abióticos (Rao y Hodgkin, 2002; Brown, 2008; Berretta *et al.*, 2010; Govindaraj *et al.*, 2015).

La provincia de Misiones presenta un contexto productivo, socioeconómico y ambiental que lo diferencia claramente del resto del país. De la producción agrícola, aproximadamente el 6% corresponde a cereales y oleaginosas (PROSAP, 2009). La producción agropecuaria se desarrolla principalmente en explotaciones pequeñas (menor a 25 has.) con un alto grado de diversificación. Los agricultores cultivan el maíz para el autoconsumo, bajo condiciones ambientales difíciles (imprevisibilidad de las condiciones climáticas, presión de enfermedades, plagas y malezas) y sin la utilización de insumos químicos, tecnología e infraestructura que les permitan alcanzar una mayor productividad. Las poblaciones locales de maíz presentan una gran relevancia socioeconómica y una gran difusión en los sistemas agrícolas familiares y comunidades indígenas de la región. Se han identificado al menos 14 razas nativas (Cámara Hernández & Miente Alzogaray, 2003; Melchiorre *et al.*, 2006; Bracco *et al.*, 2012,

2013; Cámara Hernández *et al.*, 2012) que difieren principalmente en las características de la mazorca (morfología, tamaño, diámetro de la mazorca y número de hileras) y del grano (morfología, tamaño, indentación, textura, colores del pericarpio, aleurona y endosperma). Sin embargo hasta el momento no existe una descripción y valoración con el detalle pertinente para poder hacer planteamientos orientados al aprovechamiento y conservación de las mismas.

La caracterización y evaluación en base a caracteres morfológicos y agronómicos proporcionará información valiosa acerca de la adaptación, el potencial productivo y la diversidad de los materiales evaluados (Peñaloza *et al.*, 2010). El conocimiento de la base genética de los caracteres ligados a la producción, ciclo y los procesos fisiológicos asociados permitirá delinear procedimientos para un mejor aprovechamiento de estos materiales (Ruiz de Galarreta y Álvarez, 1995; Herrera Cabrera *et al.*, 2000). En tanto que la identificación de poblaciones sobresalientes permitirá aportar a la preservación de la variabilidad genética local, promover su uso y otorgar beneficios económicos a los agricultores (Pinheiro de Carvalho *et al.*, 2008).

Los objetivos de este capítulo fueron i) Evaluar el desempeño agronómico de poblaciones locales de maíz en el contexto ambiental y productivo de la provincia de Misiones, ii) estimar los componentes genético y ambiental de la variabilidad fenotípica observada, calcular los parámetros genéticos y las correlaciones fenotípicas para caracteres agromorfológicos, y iii) identificar poblaciones con valor promisorio para el mejoramiento y/o uso directo.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. MATERIAL VEGETAL

La elección del material vegetal utilizado en la evaluación y posterior clasificación se realizó considerando diferentes orígenes y fechas de colecta. Dentro de cada grupo las poblaciones locales fueron escogidas para representar distintos tipos raciales y ambientes de la provincia (regiones naturales, tipos de suelos y regímenes pluviométricos diferentes) (SAGyP-INTA, 1990; Olinuk *et al.*, 2003) (Figura 2.1).

Los datos de pasaporte de los materiales evaluados (localidad de procedencia, fecha de colecta, raza y donante) se especifican en la Tabla 2.1.

De esta manera los materiales provinieron de dos orígenes distintos, (Comunidades Mbya y pequeños productores locales) y de dos expediciones de colecta diferentes, una de ellas realizada por el Banco de Germoplasma de Maíz del INTA EEA Pergamino en la década del 70 (Materiales del BAG) y otra realizada en la actualidad por el equipo de Cultivos Anuales de la EEA Cerro Azul de INTA (Colecta actual). En todos los casos se puso especial cuidado de recolectar muestras representativas de la variabilidad genética existente.

Para los ensayos morfo-agronómicos se utilizaron como testigos tres materiales de gran difusión en la provincia: Leales 25 plus, Santa Elena 5090 y Centralmex. Los dos primeros se usan actualmente y el tercero representa una variedad que tuvo gran difusión en la provincia pero que ha caído en desuso. La forma racial y el grado de mejoramiento de los materiales utilizados como testigos se detallan en la tabla 2.2.

Tabla 2.1. Datos de pasaporte de las poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

N°	Identificador	Localidad	Departamento	Fecha colecta	Forma racial	Donante	
COLECTA ACTUAL	P1	MNES01	El Soberbio	Guaraní	2008	Catete oscuro	Mbya guaraní
	P2	MNES02	El Soberbio	Guaraní	2008	Avatí morotí ti	Mbya guaraní
	P3	MNES03	El Soberbio	Guaraní	2008	Avatí morotí mitá	Mbya guaraní
	P5	MNES05	L.N.Alem	L.N.Alem	2008	D. amarillo marlo fino	Productores
	P6	MNES06	Picada Propaganda	Cainguás	2008	Dentado amarillo	Productores
	P7	MNES07	Montecarlo	Montecarlo	2008	Cravo	Productores
	P8	MNES08	Puerto Rico	L. G. San Martín	2008	Semidentado	Productores
	P9	MNES09	L.N.Alem	L.N.Alem	2008	Dentado amarillo	Productores
	P10	MNES010	L.N.Alem	L.N.Alem	2008	Dentado blanco	Productores
	MATERIAL DEL BAG	P11	ARZM05-002	Leandro N. Alem	Leandro N. Alem	1977	Dentado amarillo
P12		ARZM05-016	Almafuerte	Leandro N. Alem	1977	Avatí morotí	Productores
P13		ARZM05-022	Picada Yapeyú	Oberá	1977	Dentado blanco	Productores
P14		ARZM05-026	Alberdi	Oberá	1977	Cravo	Productores
P15		ARZM05-030	San Ignacio	San Ignacio	1977	Tusón	Productores
P16		ARZM05-067	Campo Las Monjas	Guaraní	1977	Avatí Morotí Ti	Mbya guaraní
P17 ³		ARZM05-070	Campo Las Monjas	Guaraní	1977	Avatí Morotí Mitá	Mbya guaraní

BAG: Banco Activo de Germoplasma de Maíz del INTA EEA Pergamino.

Tabla 2.2. Datos relevantes de los testigos (Tipo y forma racial).

N°	Identificador	Forma racial	Tipo
T18	Leales 25 Plus	Cristalino colorado	Variedad mejorada
T19	Centralmex	Semidentado	Variedad mejorada antigua
T20	Santa Helena 5090	Cristalino colorado	Hibrido

³ Poblaciones pertenecientes al mismo tipo racial recolectadas en el Departamento de Guaraní (Misiones), procedentes de distintos años de colecta: P17 fue colectada en 1977 por el Banco de Germoplasma de Maíz del INTA EEA Pergamino y P3 pertenece a una colecta actual realizada por el equipo de Cultivos Anuales del INTA EEA Cerro Azul en el año 2008.

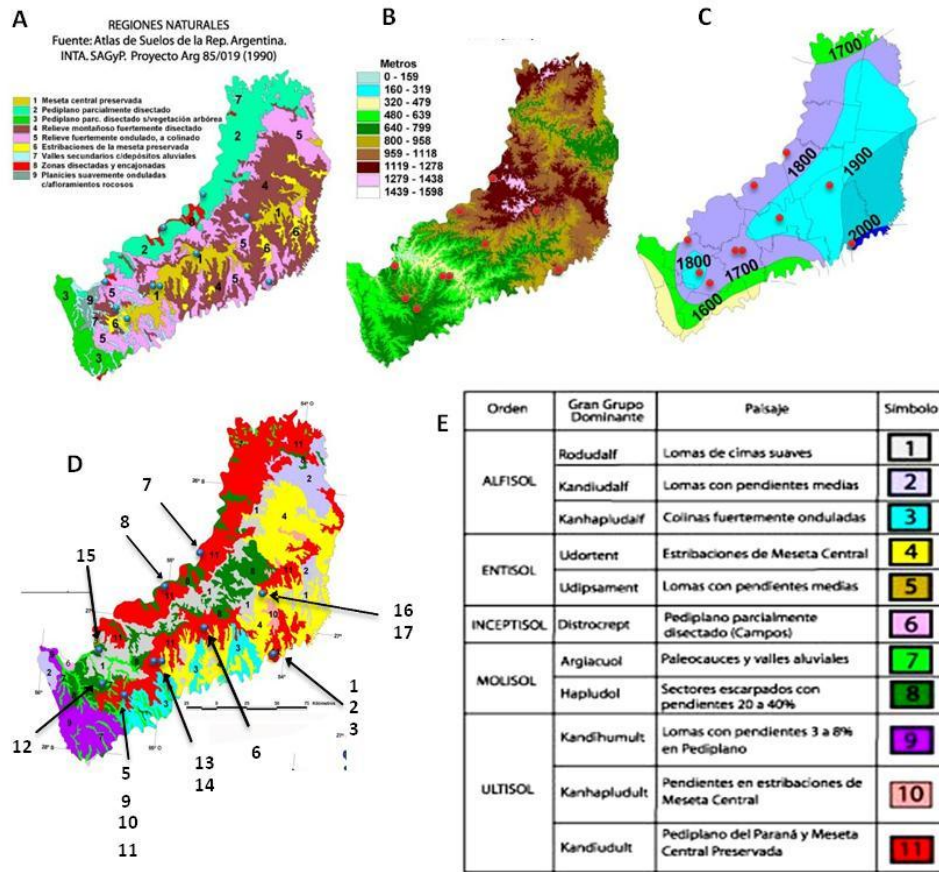


Figura 2.1. Sitios de colecta de las poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones. A: Regiones naturales de la provincia, B: mapa morfo-métrico, C: isohietas pluviuales, D: tipos de suelos, E: referencia. Los números presentados en la Figura D corresponden a las poblaciones descritas en la Tabla 2.1.

2.2.2. ENSAYOS DE EVALUACIÓN

Para la caracterización del material a evaluar se llevaron a cabo ensayos en cuatro ambientes diferentes localizados en tres localidades de la provincia de Misiones: Santa Rita (Departamento 25 de Mayo), Aristóbulo del Valle (Departamento Caingúas) y Cerro Azul (Departamento Leandro N. Alem). Los mismos se escogieron por representar situaciones edafo-climáticas diferentes, pero ubicados a una distancia que permitiera una correcta evaluación y seguimiento (Figura 2.2).

Las experiencias se realizaron durante las campañas 2009/2010 y 2010/2011. De esta manera, los ambientes I y II correspondieron a la primera campaña en las localidades de Aristóbulo del Valle y Santa Rita respectivamente. La siembra fue realizada el 03 de noviembre en el ambiente I y el 04 de noviembre en el ambiente II. Los ambientes III y IV correspondieron a dos ensayos llevados a cabo durante la segunda campaña en dos ambientes con condiciones edáficas diferentes situados en la localidad de Cerro Azul, Los mismos fueron sembrados el 01/11 y el 02/11, respectivamente.

El diseño experimental utilizado en los cuatro ensayos de evaluación fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió en

una parcela de tres surcos, de cinco metros de longitud distanciados 0,70 m entre sí. La densidad final fue de 57.200 plantas/hectárea (4 plantas/metro lineal).

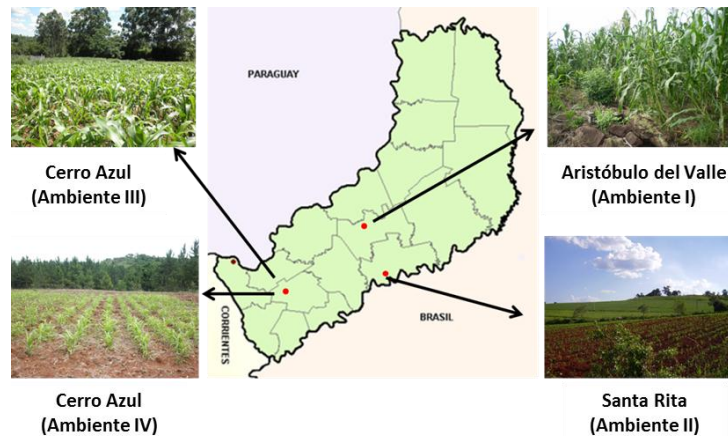


Figura 2.2. Ambientes de evaluación.

Se utilizó el sistema de manejo empleado por los productores de la región, que consistió en labranza convencional, siembra manual y sin aplicación de fertilizantes. Se aplicaron herbicidas de preemergencia en la totalidad de los ensayos (3 l/ha de atrazina 50%), volviéndose a aplicar 2 l/ha de atrazina 50% en estado vegetativo previo a V6 (sexta hoja totalmente desplegada). Además, se emplearon métodos manuales de remoción de malezas cuando se consideró necesario. Para el control de insectos del suelo y nematodos se utilizó Cipermetrina a razón de 200 cm³/ha en preemergencia.

La cosecha se realizó luego de alcanzada la madurez fisiológica, con una humedad entre el 20 y 25%. Se cosechó manualmente el surco central de cada unidad experimental. Las mazorcas cosechadas se dejaron secar a la sombra, sobre zarandas que permitieron el paso del aire hasta alcanzar una humedad próxima al 14%.

2.2.3. CARACTERES Y PARÁMETROS EVALUADOS

Se registraron variables cualitativas (raza, textura de grano y color de grano) y cuantitativas (fenológicas, morfológicas y agronómicas) importantes para la caracterización y evaluación de estos materiales. Cada variable se midió de acuerdo a los protocolos propuestos en la lista de descriptores del IPGRI (CIMMYT/IBPGRI, 1991), seleccionando aquellos caracteres de interés para el pequeño productor de la región.

Las variables cualitativas se evaluaron sobre la totalidad de las mazorcas seleccionadas al azar, descartando aquellas que presentaban efecto de xenia (efecto de fuente polen ajena sobre caracteres del grano, indicativas de polinización cruzada con materiales no deseados).

Un resumen de las variables cualitativas y cuantitativas evaluadas, con su correspondiente unidad de medida, es presentado en las Tablas 2.3 y 2.4, respectivamente.

2.2.3.1. Variables fenológicas:

- Se registró el día en que el 50 % de las plantas de cada parcela alcanzaron la floración masculina o antesis (panojas con anteras exertas liberando polen) y la

floración femenina o *silking* (mazorcas con estigmas visibles). La observación se realizó en el surco central excluyendo las plantas que se encontraban en los 0,50m de los extremos del surco (se incluyeron aproximadamente 18 plantas por parcela). Los días transcurridos desde la siembra se transformaron a tiempo térmico (Unidades de grados días, GDU), para las floraciones masculina (GDUF) y femenina (GDUF) según la fórmula (Andrade *et al.*, 1996):

$$GDU = \sum n (Tas - Tb),$$

Dónde: Tas = Temperatura media del aire

Tb = Temperatura base: es el valor de temperatura del aire al cual las plantas detienen su desarrollo (se asumió un valor de 8°C para la temperatura base hasta anthesis o silking; Cárcova *et al.*, 2003).

- Se calculó el índice de sincronía entre las floraciones masculina y femenina (ASI: Anthesis-silking interval) como la diferencia entre los grados días a floración masculina (GDUM) y grados días a floración femenina (GDUF).
- Se computó el largo del ciclo total como la sumatoria de grados días acumulados desde la siembra hasta la madurez fisiológica de la parcela. Se asumió como fecha de madurez fisiológica al momento cuando el 50 % de las plantas del surco central de cada parcela se encontraron en estado de madurez fisiológica (R6 según la escala de Ritchie *et al.*, 1993).

Tabla 2.3. Variables cualitativas analizadas junto a su correspondiente codificación.

ATRIBUTO	VARIANTES	CODIGO
Raza	Catete oscuro	1
	Avatí Morotí Ti	2
	Avatí Morotí mitá	3
	Avatí morotí	4
	Dentado amarillo marlo fino	5
	Dentado amarillo	6
	Cravo	7
	Semidentado	8
	Dentado blanco	9
	Tuzón	10
	Cristalino	11
Textura	Harinoso	1
	Semiharinoso	2
	Dentado	3
	Semidentado	4
	Semicristalino	5
	Cristalino	6
Color	Blanco	1
	Amarillo	2
	Morado	3
	Negro	4
	Anaranjado-rojizo	5
	Anaranjado	6

2.2.3.2. Variables morfológicas

- Se midió la altura (ALTPL, cm) de 10 plantas por parcela sobre el surco central. La medición se realizó desde la base de la planta hasta el ápice de la panoja al momento de estado lechoso del grano (R3 según escala de Ritchie *et al.*, 1993). Se calculó el promedio de altura de las plantas medidas por parcela.
- Se midió la altura de inserción de la mazorca superior (ALTMZ, cm) desde la base de la planta al momento de estado lechoso del grano (R3 según escala de Ritchie *et al.*, 1993) sobre las mismas 10 plantas por parcela sobre el surco central. Se calculó el promedio de altura de inserción de las plantas medidas por parcela.
- Se calculó la relación de la altura de planta y la altura de inserción de la mazorca superior (INS) como el cociente entre ambos valores promedio por parcela.
- Se midió el diámetro del tallo (DT, mm) en el primer entrenudo tomado desde la base sobre las mismas 10 plantas por parcela sobre el surco central. Se calculó el promedio del diámetro del tallo de las plantas medidas por parcela.
- Se registró el número total de hojas por planta (NH) sobre 10 plantas por parcela sobre el surco central. Se realizó el recuento después de floración considerando las hojas basales descompuestas mediante el marcado previo de hojas en etapas vegetativas tempranas para evitar errores en el recuento final.
- Se midió el largo y ancho de la hoja bandera (hoja superior) y de la hoja de la espiga después de floración. La longitud se midió desde la lígula hasta el ápice de la hoja y el ancho se tomó en el punto más ancho de la lámina en ambas hojas por planta. La medición se realizó sobre 10 plantas por parcela del surco central. El área de cada hoja medida se estimó como el producto de su longitud por su ancho, afectado por un factor igual a 0,75 (Dwyer y Stewart, 1986). Tanto el valor del área de hoja bandera (AHB, cm²) como el del área de hoja de la espiga (AHE, cm²) se obtuvieron como el promedio por parcela.
- Se midió la longitud (LMZ, cm) y diámetro (DMZ, mm) de mazorca sobre 10 mazorcas tomadas al azar de la totalidad de espigas cosechadas en cada parcela (surco central). La longitud se midió desde la inserción con el pedúnculo en el tallo hasta la punta de la espiga (sin las barbas o estigmas) y el diámetro se midió con calibre sobre parte central de la espiga.
- Se hizo el recuento del número de hileras (NHIL) y del número de granos por hilera (GHIL) sobre 10 espigas tomadas al azar de la totalidad de espigas cosechadas en cada parcela (surco central).
- Se midió el ancho (AGR, mm), largo (LGR, mm) y grosor (GGR, mm) de 10 granos tomados al azar de la parte central de 10 espigas tomadas al azar de la totalidad de mazorcas cosechadas en cada parcela (surco central).

2.2.3.3. Variables agronómicas

- Se determinó la prolificidad (PROL) de las plantas como la relación entre el número total de espigas cosechadas y el número de plantas cosechadas en cada parcela. Se expresó como número de espigas por planta.
- Se estimó el peso de mil granos (PMIL) a partir del recuento de 1000 granos tomados al azar del total cosechado por parcela y la determinación de su peso con balanza electrónica.
- Se calculó el rendimiento (REND) de cada parcela como el peso total de granos cosechados en 5 metros lineales del surco central en cada parcela, excluyendo las plantas de los bordes. Se determinó el porcentaje de humedad en los granos

mediante el empleo de un humidímetro Wile Digital 55. El rendimiento se ajustó a un porcentaje de humedad del 15% y se expresó en Kg/ha de granos.

Tabla 2.4. Variables cuantitativas analizadas junto a su correspondiente unidad de medida.

VARIABLE	CARÁCTER	MEDICIÓN
FENOLÓGICAS	Grados días a floración masculina (GDUM)	Grados días (GDU)
	Grados días a floración femenina (GDUF)	Grados días (GDU)
	Sincronía entre floración masculina y femenina (ASI)	Grados días (GDU)
	Grados día a madurez fisiológica (GDMF)	Grados días (GDU)
MORFOLÓGICAS	Altura de planta (ALTPL)	Centímetros (cm)
	Altura de inserción de mazorca (ALTMZ)	Centímetros (cm)
	Relación altura de planta/altura de inserción de mazorca (INS)	Índice
	Diámetro del tallo (DT)	Milímetros (mm)
	Número total de hojas (NH)	Número
	Largo de hoja bandera	Centímetros (cm)
	Largo de hoja de la espiga	Centímetros (cm)
	Ancho de hoja bandera	Centímetros (cm)
	Ancho de hoja de la espiga	Centímetros (cm)
	Área de la hoja bandera (AHB)	Centímetros ² (cm ²)
	Área de la hoja de la espiga (AHE)	Centímetros ² (cm ²)
	Longitud de mazorca (LMZ)	Centímetros (cm)
	Diámetro de mazorca (DMZ)	Milímetros (mm)
	Número de hileras de la mazorca (NHIL)	Número
	Granos por hilera de la mazorca (GHIL)	Número
	Ancho de grano (AGR)	Milímetros (mm)
	Largo de grano (LGR)	Milímetros (mm)
	Grosor de grano (GGR)	Milímetros (mm)
AGRONÓMICAS	Prolificidad (PROL)	Índice
	Peso de 1000 semillas (P1000)	Gramos (gr)
	Rendimiento (REND)	Kilogramos por hectárea (Kg/ha)
	Porcentaje de plantas quebradas (PORQ)	Porcentaje (%)
	Porcentaje de plantas volcadas (PORV)	Porcentaje (%)
	Proporción de marlo (PMAR)	Porcentaje (%)

- Se calculó el Porcentaje de plantas volcadas (PORV, %) y quebradas (PORQ, %) a partir del recuento de plantas volcadas y quebradas respectivamente sobre cada parcela en su totalidad y su relación con el número total de plantas presentes en cada parcela.
- Se estimó la proporción de marlo (PMAR, %) como el porcentaje en peso del marlo respecto al total de la mazorca a partir del peso de 10 mazorcas que a

continuación se desgranaron mecánicamente, recogiendo los granos resultantes y pesándolos. El porcentaje de marlo se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ marlo} = \frac{\text{Peso total} - \text{Peso del Grano}}{\text{Peso total}} \times 100$$

2.2.4. ANÁLISIS DE DATOS AGROMORFOLÓGICOS

2.2.4.1. Estadística descriptiva de las poblaciones

Las variables fenológicas, morfológicas y agronómicas se sometieron a un análisis descriptivo, determinándose los estadísticos de medida central y de dispersión más relevantes (media, valores mínimos y máximos, desvío estándar y coeficiente de variación), los cuales representaron la variabilidad existente en cada una de las poblaciones en estudio.

2.2.4.2 Evaluación de la variabilidad entre poblaciones

Los análisis de varianza (Anova) realizados sobre la información colectada fueron de dos tipos: i) a un factor y ii) multifactorial. El primero permitió observar la variabilidad entre las poblaciones correspondientes a un mismo ambiente, mientras que el segundo permitió determinar la significancia de los efectos del ambiente y de la interacción GxA que no pueden ser determinados al realizar los Anova individuales.

Anova a un factor de clasificación:

El modelo matemático utilizado para cada ambiente fue:

$$y_{kl} = \mu + B_k + G_l + e_{kl}$$

Dónde: y_{kl} = cada una de las variables de respuesta

μ = media general

B_k = efecto de bloque, $k=1,2,3$

G_l = efecto de población, $i = 1 \dots 20$

e_{kl} = error experimental

Las respectivas fuentes de variación, grados de libertad y cuadrados medios se presentan en la siguiente Tabla de análisis de la varianza (Tabla 2.5).

Se comprobaron los supuestos del Anova en forma individual para cada variable en cada ambiente de evaluación. La independencia de los errores experimentales se aseguró con la asignación aleatoria de los genotipos (poblaciones) en las unidades experimentales. El supuesto de distribución normal se analizó utilizando el test de Shapiro-Wilk. El software estadístico utilizado fue SAS (SAS Institute, 2001). El valor de "F" se consideró significativo a un nivel de probabilidad del 0,05.

Tabla 2.5. Tabla de Análisis de la varianza a nivel de sitios.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	CM esperado
Bloques	$r - 1$	SCBloques	SCBloques/ $(r - 1)$	$\sigma^2 + t.\Sigma B_k^2 / (r-1)$
Tratamientos	$t - 1$	SCTrat	SCTrat/ $(t - 1)$	$\sigma^2 + r.\Sigma P_i^2 / (t-1)$
Error	$(t - 1) (r - 1)$	SCError	SCE / $(t - 1) (r - 1)$	σ^2
Total	$tr - 1$	SCTotal		

Anova multifactorial:

Para que los datos de los distintos experimentos puedan ser reunidos es necesario que exista homogeneidad de varianzas, esto es, que los cuadrados medios de los residuos no difieran mucho entre sí. Para evaluar esta homogeneidad se utilizó el test de Levene.

El modelo lineal utilizado para el análisis multifactorial fue:

$$y_{jkl} = \mu + A_j + B_{k(j)} + G_i + A_j \times G_i + e_{jkl}$$

Siendo: y_{jkl} = cada una de las variables de respuesta

μ = media general

A_j = efecto del ambiente $j = I, II, III$ y IV

$B_{k(j)}$ = efecto de bloque k anidado en el ambiente j , $k=1,2,3$

G_i = efecto de población, $i = 1 \dots 20$

$A_j \times G_i$ = interacción población x ambiente

e_{jkl} = error experimental

Para comparar los rendimientos de cada población con los testigos utilizados se utilizó el test de Dunnett.

2.2.4.3. Estimación de los Componentes de Varianza y Parámetros genéticos

En base a las esperanzas de los cuadrados medios del Análisis de la Variancia Multifactorial, se estimaron los componentes de variancia ambiental, del bloque, genotípica, de la interacción y del error experimental (Tabla 2.6).

Las estimaciones de los componentes de la varianza han servido para el cálculo posterior de parámetros genéticos como la heredabilidad y la constancia de los caracteres agromorfológicos, los que permitirán determinar cuáles caracteres son aptos

para su utilización en la clasificación taxonómica de las poblaciones y para la selección de individuos en estrategias de mejoramiento posteriores.

Tabla 2.6. Tabla de Análisis de la varianza multifactorial.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Cuadrados medios	CM esperado
Ambiente	a- 1	CM1	$\sigma_e^2 + b \cdot \sigma_{G \times A}^2 + g \cdot \sigma_{Bk}^2 + b \cdot g \cdot \sigma_A^2$
Bloques	a. (b - 1)	CM2	$\sigma_e^2 + g \cdot \sigma_{Bk}^2$
Genotipo	g - 1	CM3	$\sigma_e^2 + b \cdot \sigma_{G \times A}^2 + b \cdot a \cdot \sigma_G^2$
Gen x Amb	(g - 1) . (a - 1)	CM4	$\sigma_e^2 + b \cdot \sigma_{G \times A}^2$
Error	a. (b - 1) . (g - 1)	CM5	σ_e^2
Total	(a . b . g) - 1		

Siendo: σ_{Bk}^2 = efecto debido a las diferencias entre bloques

σ_G^2 = componente de la variancia debido a diferencias entre poblaciones

σ_A^2 = componente de la variancia debido al ambiente

$\sigma_{G \times A}^2$ = componente de la variancia debido a las interacciones genotipo-ambiente

σ_e^2 = componente de la variancia debido al error experimental (azar)

a = número de ambientes

b = número de bloques completos

g = número de poblaciones (genotipos)

Heredabilidad en sentido amplio

A partir de las estimaciones de los componentes de variancia se procedió al cálculo de la heredabilidad en sentido amplio (H^2), como el cociente entre la variancia genotípica (σ_G) y la fenotípica (σ_F) de acuerdo a la fórmula (1):

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2} = \frac{\sigma^2 G}{\sigma^2 A + \sigma^2 G + \sigma^2 G \times A} \quad (1)$$

La variancia fenotípica se calculó según Falconer (1983), correspondiendo los subíndices con los descritos anteriormente en este apartado.

Las estimaciones de la heredabilidad fueron clasificadas como: altas (>60%), moderadas (30-60%) y bajas (<30%) como propuso Robinson *et al.* (1949).

Constancia

La constancia (C) informa acerca de la estabilidad de un carácter, es decir, de su comportamiento en una serie de ambientes (Eberhart y Russell, 1966) y se expresa mediante la siguiente fórmula:

$$C = \frac{\sigma^2 G}{\sigma^2 e + \sigma^2 A + \sigma^2 GxA}$$

Valores cercanos a 1 se consideran más estables mientras que valores cercanos a 0 indican una mayor influencia ambiental y de la interacción GxA.

2.2.4.4 Correlación entre caracteres agromorfológicos

Para determinar las asociaciones entre caracteres agromorfológicos en la colección de trabajo, se realizó un análisis de correlaciones de Pearson (r) entre los caracteres cuantitativos evaluados.

Para la interpretación biológica de los resultados se utilizaron los rangos del coeficiente de correlación propuestos por Martínez Cruz (2011): débil ($\leq 0,100$), moderada (0,101-0,300), moderadamente fuerte (0,301-0,500), fuerte (0,501- 0,700) y muy fuerte ($\geq 0,701$).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. AMBIENTES DE EVALUACIÓN

La caracterización de los materiales se realizó durante dos campañas agrícolas en cuatro ambientes: 2009/10 (Ambientes I y II) y 2010/11 (Ambientes III y IV). Los ambientes presentaron condiciones químicas del suelo contrastantes (Tabla 2.7).

Tabla 2.7. Características químicas del suelo en los cuatro ambientes de evaluación.

Característica	Ambiente			
	I	II	III	IV
MO (%)	3,70	2,22	2,43	1,49
N (%)	0,35	0,13	0,16	0,13
P2O5 (ppm)	8,38	4,87	1,22	5,69
K (meq/100g)	1,46	0,48	0,51	0,14
Ca (meq/100g)	15,68	3,08	13,64	14,53
Mg (meq/100g)	3,79	1,09	3,18	5,38
pH Agua	6,45	5,02	5,84	5,21
Relación C/N	8,18	12,83	11,47	8,74
Al (meq/100g)	nd	0,82	nd	0,38

Ppm: mg kg⁻¹; Meq/100g: cmol(+) kg⁻¹; % : dg kg⁻¹.

El ambiente I correspondió a un suelo de tipo Udortente Lítico del Orden de los Entisoles, con valores característicos de suelos toscos, buena calidad química,

contenidos adecuados de Materia Orgánica (MO), Nitrógeno (N), Fósforo (P) y pH, y altos de Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg).

El ambiente II fue un Kandiuultre típico del Orden de los Ultisoles, suelo rojo típico, de baja fertilidad, con valores limitantes para la mayoría de sus componentes (MO, N, P, Ca, Mg). El bajo valor de pH y el alto tenor de Aluminio (Al) presente en el perfil redujeron la disponibilidad de elementos de por sí deficitarios (P).

Los ambientes III y IV correspondieron a suelos de tipo Argiudol óxico del Orden de los Molisoles, conocidos como suelos rojos-toscosos, con altos contenidos de bases (Ca, K y Mg) y valores limitantes de MO, P y N. El ambiente IV, correspondió a un suelo muy desgastado por la actividad agrícola, con contenidos altamente limitantes de MO y N (1,49% y 0,13%) y trazas de Al en el perfil del suelo (0,38).

En los ambientes I y II, el ciclo de producción se caracterizó por abundantes precipitaciones por encima del promedio histórico para el período del año considerado (850,1 mm para la serie 1967/2008), totalizando 1148 y 1175mm, respectivamente. La distribución de lluvias en ambos ambientes fue similar, observándose altos registros desde el establecimiento del cultivo a floración, pero con grandes diferencias al final del ciclo: el ambiente I mostró una tendencia al aumento del número de precipitaciones, en tanto que el ambiente II mostró una brusca caída del registro hacia el final de ciclo (Figuras 2.3 y 2.4).

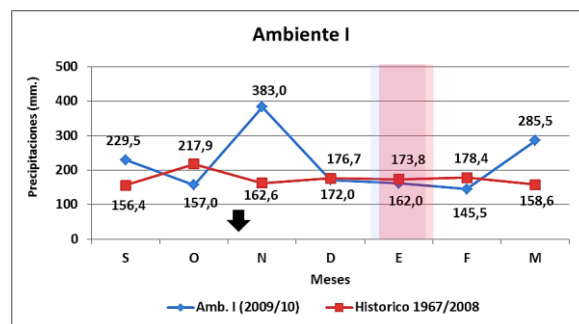


Figura 2.3. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo en el ambiente I. Ventana floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

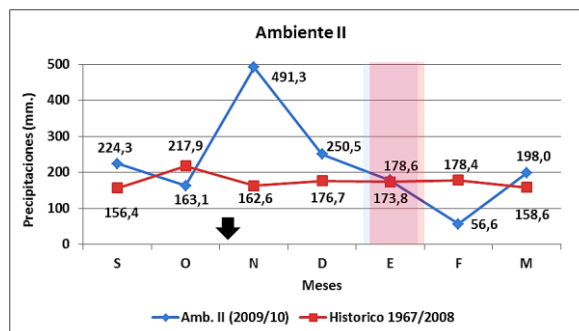


Figura 2.4. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo en el ambiente II. Ventana floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

En los ambientes III y IV se registraron valores similares de precipitación respecto de los reportados para la serie histórica 1968/2009 (825,7mm vs 855,6mm), aunque con un patrón de distribución sumamente irregular. Se observaron valores limitantes durante los primeros estadios del cultivo y valores intermedios a intermedios-

altos durante el período crítico, fase de llenado y madurez fisiológica (Figuras 2.5 y 2.6).

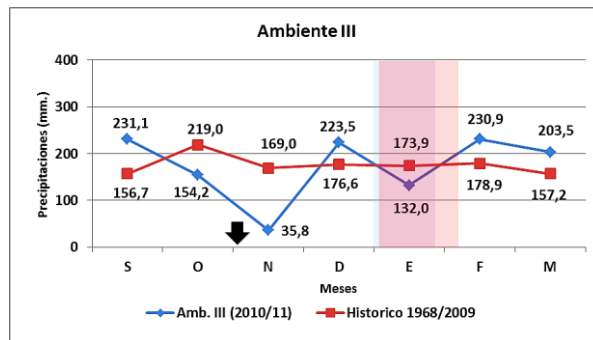


Figura 2.5. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo en el ambiente III. Ventana floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

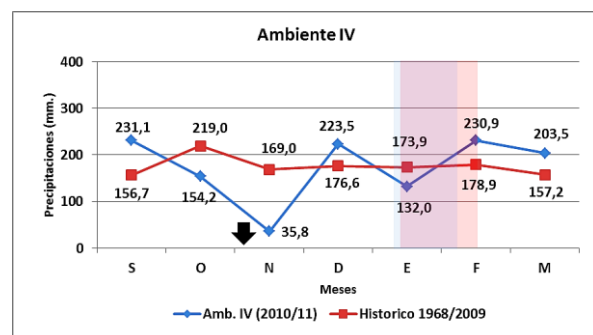


Figura 2.6. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo en el ambiente IV. Ventana floración femenina (rojo) y masculina (celeste). Fecha de siembra (flecha).

Las temperaturas medias y máximas fueron más elevadas durante 2009/10, excepto para el mes de enero cuando los mayores valores se registraron durante la campaña 2010/2011 (Figuras 2.7 y 2.8).

En los ambientes I y III se observó un acortamiento del ciclo hasta la floración, mayor sincronía entre las floraciones masculinas y femeninas, mayor altura de planta, mayor longitud de mazorca, mayor número de hileras y de granos por hilera, mayor rendimiento y mayor peso de mil granos, con respecto a los ambientes II y IV (Tabla 2.8).

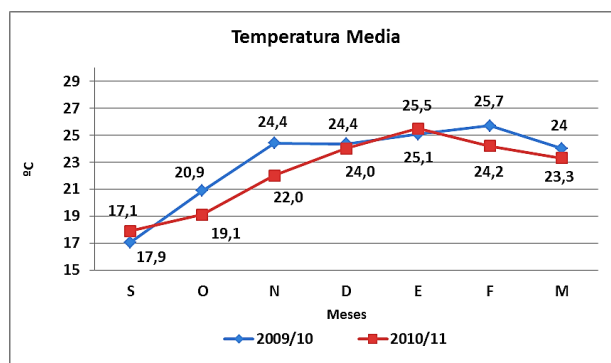


Figura 2.7. Temperatura media registrada en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

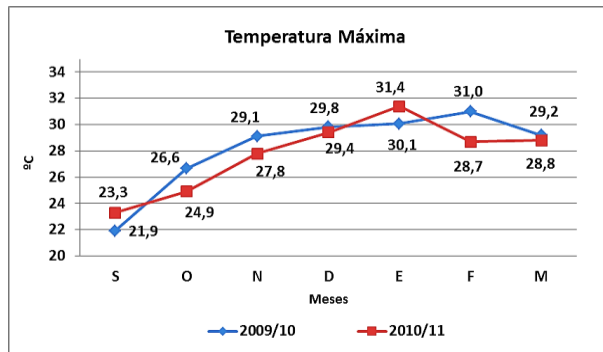


Figura 2.8. Temperatura máxima registrada en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

Tabla 2.8. Valores medios sobre el total de los materiales y sobre el grupo de testigos, para cada variable y ambiente de evaluación.

Variable	Ambiente I		Ambiente II		Ambiente III		Ambiente IV	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
GDUF	1095	902-1252	1272	984-1376	1105	768-1367	1294	920-1468
GDUM	1029	844-1178	1168	919-1294	1020	768-1212	1169	889-1326
ASI	66,2	0-203	104	0-196,4	85,1	0-280,6	125	0-203,3
GDMF	-	-	-	-	1414	1157-1562	1600	1285-1705
ALTPL	227	172-290	184,8	118,3-243	233,4	172-303,5	179,8	124,5-224
ALTMZ	138,8	82-194	106,6	54,2-156,5	141	76-190,5	98,5	58,5-127,5
INS	1,7	1,44-2,25	1,8	1,55-2,25	1,7	1,4-2,4	1,9	1,59-2,41
DT	21,9	16,3-27,6	17,9	12,8-25,5	-	-	-	-
NH	17,6	13,8-21,7	16,8	12,3-19,5	18	13,4-20,8	16,4	12,9-18,9
LMZ	15,4	12,4-18,5	13,5	9,8-16,8	14,8	10,2-17,7	14,1	11,8-16,9
DMZ	42,3	30,1-52,6	40,2	28,7-48,6	41,3	30,8-48,8	41,3	28,3-50,6
NHIL	14,1	10,7-22	13,7	9-20,8	13,8	10,6-20,3	13,0	9,4-19,8
GHIL	35,5	28-47	29,2	21,3-44,9	31,3	21,5-41,3	29,4	24,6-37,9
AGR	8,7	6,76-9,95	8,4	6,8-9,71	8,5	7,2-9,8	8,6	7,0-9,6
LGR	10,9	8,6-13,7	10,8	8,5-13,0	10,9	8,1-12,9	11,1	7,6-14,5
GGR	4,2	3,38-5,17	4,2	3,4-5,2	4,1	3,2-4,7	4,1	3,4-5,0
P1000	209,2	135-330	162,7	107-252,5	193	152-306	178,4	118,7-244
REND	4254	1205-7902	2764	1498-4820	3249	1275-5854	2730	1421-3967
AHB	-	-	-	-	125,7	67,3-1882	144,8	55,4-285,4
AHE	-	-	-	-	572,9	428-773	518,5	253-744
PMAR	25,2	17,6-56,8	26,5	17,5-62,9	21,7	14,5-35,4	20,6	15,1-27,5
PORQ	1,1	0-40	4,1	0-100	4,3	0-18,8	8,7	0-35,3
PORV	15,5	0-95	20,1	0-100	19,9	0-82,4	2,5	0-33,3
PROL	1,1	1-1,9	0,7	0,36-1,23	1	1-1,4	0,9	0,6-1,1

GDUF: grados día a floración femenina; GDUM: grados día a floración masculina; ASI: asincronía floral; GDMF: grados día a madurez fisiológica; ALTPL: altura de planta; ATMZ: altura de inserción de mazorca; INS: relación altura de planta/altura de inserción de mazorca; DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; AHB: área de hoja bandera; AHE: área hoja de la espiga; LMZ: longitud de mazorca; DMZ: diámetro de mazorca; NHIL: número de hileras; GHIL: número de granos por hilera; AGR: ancho de grano; LGR: longitud de grano; GGR: grosor de grano; P1000: peso de mil; REND: rendimiento; PMAR: proporción de marlo; PORQ: porcentaje de quebrado; PORV: porcentaje volcado; PROL: prolificidad.

2.3.2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS POBLACIONES

Todos los caracteres presentaron un amplio rango de variación (Tabla 2.9). La asincronía floral (ASI) y el porcentaje de quebrado y volcado (PORQ y PORV), se destacaron como las variables con mayores coeficientes de variación y diferencias entre los valores mínimos y máximos. En tanto que los caracteres altura de inserción de mazorca (ALTMZ), área de hoja bandera y de la espiga (AHB y AHE), peso de mil granos (P1000), proporción de marlo (PMAR), prolificidad (PROL) y rendimiento (REND) mostraron valores máximos de 3 a 6 veces superiores a los mínimos. Los demás caracteres mostraron variabilidad, destacándose por su importancia agronómica, grados días a floración femenina y masculina (GDUM y GDUF), altura de planta (ALTPL), relación altura de planta/altura de inserción (INS), diámetro del tallo (DT), diámetro de mazorca (DMZ), número de hileras y de granos por hilera (NHIL y GHIL).

Tabla 2.9. Valores medios, coeficientes de variación y rangos obtenidos para cada variable agromorfológica en todos los ambientes de evaluación.

Variable		Media	CV	Rango	Max/Min
FENOLOGICAS	GDUF	1192	13,12	768,5-1468,8	1,91
	GDUM	1096	10,63	768,5-1326,1	1,73
	ASI	95,09	60,31	0-280	280,00
	GDMF	1507	8,98	1158-1705	1,47
MORFOLÓGICAS	ALTPL	206,25	18,56	118,3-303,5	2,57
	ALTMZ	121,2	26,95	54,2-194	3,58
	INS	1,76	11,36	1,4-2,4	1,71
	DT	19,93	16,34	12,8-27,6	2,16
	NH	15,69	15,37	9,3-20,8	2,24
	AHB	135,01	30,04	55,4-285,4	5,15
	AHE	546,5	20,77	252,6-772,9	3,06
	LMZ	14,44	11,19	9,8-18,6	1,90
	DMZ	41,24	13,19	28,3-52,6	1,86
	NHIL	13,63	16,15	sep-22	2,44
	GHIL	31,34	14,68	21,3-47	2,21
	AGR	8,55	6,88	6,8-9,95	1,46
	LGR	10,92	11,99	7,6-14,5	1,91
	GGR	4,13	9,16	3,2-5,2	1,63
AGRONÓMICAS	P1000	185,5	19,76	107,1-329,7	3,08
	REND	3236,5	36,62	1205-7902	6,56
	PMAR	23,48	23,12	14,5-62,9	4,34
	PORQ	4,55	219,58	0-100	100,00
	PORV	14,5	154,7	0-100	100,00
	PROL	0,95	23,19	0,36-1,9	5,28

Los testigos mostraron mayores valores medios de los componentes de rendimiento y menor porcentaje de volcado y quebrado que las poblaciones locales, además presentaron los ciclos más cortos, floraciones mas sincrónicas y menor altura de

planta y de inserción de mazorca. Por su parte, las poblaciones locales mostraron un rango más amplio que los testigos para todas las variables evaluadas (Tabla 2.10), observándose algunas que superaron o igualaron en cuanto a rendimiento (REND) a los testigos utilizados (Tabla 2.11).

Tabla 2.10. Variables fenológicas, morfológicas y agronómicas. Valores medios y rango obtenidos sobre el total de materiales y sobre el grupo de testigos para cada variable en todos los ambientes.

Variable		POBLACIONES			TESTIGOS		
		Media	Min.	Máx.	Media	Mín.	Máx.
FENOLOGICAS	GDUF	1205,0	907,5	1332,3	1122,9	1033,6	1294,3
	GDUM	1103,7	867,4	1213,5	1060,5	996,6	1181,5
	ASI	101,2	40,1	154,1	62,4	30,2	112,8
	GDMF	1510,3	1290,4	1615,1	1490,9	1421,8	1558,1
MORFOLOGICAS	ALTPL	209,0	163,6	246,9	191,6	162,7	245,8
	ALTMZ	123,5	77,4	155,1	109,3	84,9	153,1
	INS	1,76	1,60	2,20	1,83	1,60	2,00
	NHOJ	17,3	13,5	19,0	16,6	15,2	19,2
	DT	20,0	16,9	22,5	19,4	18,0	21,7
	AHB	135,4	77,4	177,9	130,0	95,6	174,3
	AHE	551,7	381,4	679,0	512,7	409,1	704,2
	LMZ	14,4	12,6	15,7	15,0	14,3	15,7
	DMZ	40,7	30,6	48,5	43,9	43,7	44,1
	NHIL	13,56	10,8	19,4	13,9	12,5	14,9
	GHIL	31,4	28,1	37,8	31,12	29,2	33,8
	AGR	8,5	7,3	9,3	9,0	8,7	9,5
	LGR	10,9	8,5	13,0	10,8	10,5	11,3
	GGR	4,1	3,5	4,7	4,4	4,2	4,6
AGRONOMICAS	P1000	182,6	154,9	249,2	199,8	179,7	230,8
	REND	3138,5	1901,9	4176,4	3715,4	3302,9	3991,6
	PMAR	23,5	18,9	29,2	23,3	21,9	24,5
	PORQ	4,7	0,5	14,2	3,87	1,9	6,9
	PORV	16,3	5,7	37,3	4,7	0,5	9,3
	PROL	0,95	0,9	1,1	0,97	0,9	1,0

Exceptuando a las poblaciones de endosperma harinoso (P1, P2, P3, P12, P16 y P17), el resto presentó un comportamiento para REND igual o superior (aunque sin significancia estadística; test de Dunnett) a los testigos actuales (T18 y T20). En tanto, las poblaciones dentadas y semidentadas de la colecta actual (P5, P6, P7, P8, P9, P10) y una población dentada procedente del BAG (P14) mostraron rendimientos similares al testigo antiguo (T19) (Tabla 2.11).

Tabla 2.11. Test de Dunnett para la variable Rendimiento (REND).

Población	Unilateral derecha ^a			Unilateral izquierda ^b		
	T18	T19	T20	T18	T19	T20
P1	773,5 ***	1462,2 ***	1322,1 ***	773,5	1462,2	1322,1
P2	784,1 **	1472,8 ***	1332,7 ***	784,1	1472,8	1332,7
P3	1401,1 ***	2089,7 ***	1949,7 ***	1401,1	2089,7	1949,7
P5	-524,8	163,8	23,8	-524,8	163,8	23,8
P6	-674,3	14,4	-125,7	-674,3	14,4	-125,7
P7	-349,6	339,1	199,0	-349,6	339,1	199,0
P8	-319,0	369,6	229,6	-319,0	369,6	229,6
P9	-873,4	-184,8	-324,8	-873,4 *	-184,8	-324,8
P10	-353,8	334,9	194,8	-353,8	334,9	194,8
P11	68,0	756,6 *	616,6	68,0	756,6	616,6
P12	421,4	1110,0 ***	970,0 **	421,4	1110,0	970,0
P13	133,5	822,2 **	682,1	133,5	822,2	682,1
P14	-92,9	595,8	455,7	-92,9	595,8	455,7
P15	127,1	815,8 *	675,8	127,1	815,8	675,8
P16	870,2 **	1558,8 ***	1418,8 ***	870,2	1558,8	1418,8
P17	1177,9 ***	1866,6 ***	1726,5 ***	1177,9	1866,6	1726,5

^aTest de Dunnett (unilateral derecho): Ho: P=T; HA: T>P. P: población; T: testigo.

^bTest de Dunnett (unilateral izquierdo): Ho: P = T; HA: T<P. P: población; T: testigo.

***= p<0,001; **= p<0,01; * = p<0,05.

2.3.3. EVALUACIÓN DE LA VARIABILIDAD ENTRE POBLACIONES

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de la varianza. Previamente se verificaron los supuestos asociados al mismo, transformando aquellas variables que no lo cumplían para mejorar la fiabilidad del análisis.

Para determinar la posibilidad de análisis de cada variable a través de los ambientes de evaluación se tuvieron en cuenta los resultados del análisis de homogeneidad de variancias (Test de Levene). Las variables REND, P1000, PORQ y PORV debieron ser sometidas a transformaciones de escala. Para todas estas variables, la transformación logarítmica ($\log_{10} +1$) fue la que permitió que las mismas se adecuen a los supuestos. En tanto que las variables ALTMZ, INS, NH, PMAR y PROL fueron omitidas del análisis conjunto por no cumplir con el supuesto de homogeneidad de variancias bajo ninguna de las transformaciones a las cuales fueron sometidas. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) o altamente significativas ($P < 0,01$) entre poblaciones en cada ambiente, para la mayoría de los caracteres fenológicos y morfológicos, a excepción del DT, que no mostró diferencias significativas en el ambiente II (Tabla 2.12).

Tabla 2.12. Análisis de la Variancia individual para evaluar la significancia de los genotipos, a través de cada variable y ambiente de evaluación.

Variables	Carácter	Amb. I	Amb. II	Amb. III	Amb. IV
FENOLOGICAS	GDUF	**	**	**	**
	GDUM	**	**	**	**
	ASI	*	**	**	**
	GDMF	-	-	**	**
MORFOLOGICAS	ALTPL	**	**	**	**
	ALTMZ	**	**	**	**
	INS	**	**	**	**
	NH	**	**	**	**
	DT	**	Ns	-	-
	LMZ	**	*	**	**
	DMZ	**	**	**	**
	NHIL	**	**	**	**
	GHIL	**	**	**	**
	AGR	**	**	**	**
	LGR	**	**	**	**
	GGR	**	**	**	**
	AHB	-	-	**	**
	AHE	-	-	**	**
AGRONOMICAS	P1000	**	**	**	**
	REND	**	**	*	**
	LOG_PMAR	ns	Ns	ns	**
	PORQLOG	-	-	ns	*
	PORVLOG	ns	Ns	**	ns
	LOG_PROL	*	Ns	**	ns

Test F de significancia: ns: no significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; -: dato faltante.

Las variables agronómicas P1000 y REND mostraron diferencias significativas o altamente significativas entre poblaciones en todos los ambientes evaluados. Los caracteres LOG_PMAR y PORQLOG mostraron diferencias altamente significativas y significativas respectivamente, únicamente en el ambiente IV, mientras que PORVLOG lo hizo en el ambiente III y LOG_PROL en los ambientes I y III (Tabla 2.12). Estas variables no mostraron diferencias significativas en el resto de los ambientes.

El análisis multifactorial de la varianza reveló efectos ambientales y genotípicos significativos para los 19 caracteres analizados y también para la interacción GxA de todas las variables fenológicas, morfológicas y agronómicas excepto por GDMF, DT y PORQLOG (Tabla 2.13). El efecto de repetición dentro de ambientes resultó no significativo para ASI, LMZ, DMZ, AHE, LOGP1000 y PORVLOG, siendo para el resto de las variables significativa o altamente significativa.

Tabla 2.13. Análisis de la varianza multifactorial para los caracteres agromorfológicos. Cuadrados medios (CM) y test F de significancia.

Variable	Ambiente	Rep/E	Población (P)	GxA	Error (e)	
FENOLÓGICAS	GDUF	640565,3 **	5804,5 *	159985,3 **	6741,32 **	2367,1
	GDUM	394458,9 **	8070,1 **	82442,4 **	3066,04 **	1300,1
	ASI	36320,1 **	1683,4 ns	15657,2 **	2380,1 *	1483,7
	GDMF	985669,8 **	16664,0 **	46025,9 **	2262,1 ns	2057,5
MORFOLÓGICAS	ALTPL	44248,7 **	432,9 **	8781,2 **	346,6 **	135,8
	DT	457,84 **	16,83 **	16,08 **	4,83 ns	4,12
	LMZ	40,13 **	2,37 ns	8,32 **	2,16 *	1,29
	DMZ	41,78 **	2,99 ns	323,5 **	5,87 **	2,55
	NHIL	13,12 **	1,67 **	50,81 **	1,07 **	0,45
	GHIL	474,12 **	18,02 *	70,63 **	16,67 **	7,19
	AGR	0,48 **	0,19 *	2,82 **	0,21 **	0,09
	LGR	0,98 **	0,55 *	18,18 **	0,39 **	0,21
	GGR	0,15 **	0,04 *	1,20 **	0,08 **	0,04
	AHB	10146,0 **	3341,7 **	4909,7 **	1993,1 **	481,0
	AHE	82193,6 **	8849,9 ns	46220,1 **	11950,2 **	3656,2
AGRONÓMICAS	LOG_P1000	0,12 **	0,002 ns	0,03 **	0,005 **	0,002
	LOG_REND	0,37 **	0,03 **	0,11 **	0,02 **	0,01
	PORQLOG	0,23 **	0,79 **	0,1 *	0,07 ns	0,04
	PORVLOG	1,37 **	0,08 ns	0,18 **	0,13 *	0,06

Test F de significancia: ns: no significante; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

2.3.4. ESTIMACIÓN DE LOS COMPONENTES DE VARIANZA Y PARÁMETROS GENÉTICOS

A partir de la suma de cuadrados del ANOVA multifactorial, se estimaron las variancias ambiental (V_A), genotípica (V_G), de la interacción GxA (V_{GA}), de bloques dentro de ambientes (V_B) y del error experimental (V_e). (Tabla 2.14).

Tabla 2.14: Magnitudes relativas de los componentes de varianza expresados como porcentajes de la varianza total. Parámetros genéticos: constancia (C) y heredabilidad (H^2).

	Variable	VA	VG	VGA	VB	Ve	H^2	C
FENOLÓGICAS	GDUF	39,73	45,88	5,24	0,65	8,50	0,50	0,85
	GDUM	43,23	42,38	3,77	2,28	8,33	0,47	0,74
	ASI	16,95	31,69	8,56	0,30	42,50	0,55	0,46
	GDMF	62,52	26,83	0,25	2,83	7,57	0,30	0,37
MORFOLÓGICAS	ALTPL	45,28	41,60	4,16	0,93	8,04	0,46	0,71
	DT	52,82	12,82	1,62	4,57	28,17	0,19	0,15
	LMZ	23,14	18,35	10,37	2,03	46,11	0,35	0,22
	DMZ	2,02	86,02	3,60	0,08	8,29	0,94	6,15
	NHIL	3,76	81,98	4,09	1,27	8,90	0,91	4,55
	GHIL	33,70	19,34	13,59	2,45	30,92	0,29	0,24
	AGR	0,84	61,14	11,24	1,48	25,30	0,83	1,57
	LGR	0,25	83,53	3,38	1,01	11,83	0,96	5,07
	GGR	0,83	63,11	9,02	0,00	27,05	0,87	1,71
	AHB	5,42	28,35	29,40	8,78	28,05	0,45	0,40
	AHE	8,42	42,16	20,41	2,02	26,99	0,59	0,73
AGRONÓMICAS	LOG_P1000	27,94	28,98	11,50	0,00	31,74	0,42	0,41
	LOG_REND	20,92	27,10	12,04	3,80	36,13	0,45	0,37
	PORQLOG	0,00	2,72	10,87	42,92	43,49	0,20	0,03
	PORVLOG	19,47	3,79	21,22	0,96	54,57	0,09	0,04

V_A : varianza ambiental; V_G : varianza genotípica; V_{GA} : varianza de la interacción Genotipo x Ambiente; V_B : varianza de bloques dentro de ambientes; V_e : varianza del error experimental; H^2 : heredabilidad en sentido amplio; C: constancia.

Esta descomposición de los componentes de varianza puso en evidencia que para DMZ, NHIL, AHE, AGR, LGR y GGR la mayor parte de la variación total se debió al genotipo (entre 42,16 a 86,02 % del total), en cambio para DT y GDMF el ambiente fue responsable de la mayor parte (52,82% y 62,52% respectivamente). Por su parte

caracteres como ASI, LMZ, PORQLOG y PORVLOG presentaron valores elevados del error experimental (Tabla 2.14).

Otras variables presentaron efectos marcados de dos componentes, como el caso de GDUF, GDUM y ALTPL que mostraron grandes efectos del genotipo y del ambiente. En tanto que las variables agronómicas LOG_REND y LOGP1000 son el resultado de la influencia del genotipo, del ambiente y del error experimental (Tabla 2.14).

La componente de interacción genotipo-ambiente (V_{GA}) presentó un menor peso relativo. Los caracteres que mostraron un mayor efecto para esta componente fueron AHB, AHE y PORVLOG (>20%), en tanto los caracteres LMZ, GHIL, AGR, LOG_P1000, LOG_REND y PORQLOG presentaron valores por encima del 10%.

La variación asociada a los bloques dentro de ambientes (V_R) presentó un valor muy bajo (menor al 10% de contribución al valor total) para todos los caracteres excepto para PORQLOG que mostró un valor mayor al 40% (Tabla 2.14).

Por su parte, la mayoría de los caracteres evaluados presentaron valores moderados de heredabilidad en sentido amplio ($0,30 < H^2 < 0,60$), con excepción de DT, GHIL, PORQLOG y PORVLOG que mostraron valores bajos ($H^2 < 0,30$) y DMZ, NHIL, AGR, LGR y GGR que registraron valores altos ($H^2 > 0,60$). Estos últimos atributos (DMZ, NHIL, AGR, LGR y GGR) mostraron además de coeficientes altos de heredabilidad ($H^2 > 0,80$) un elevado grado de estabilidad del carácter a través de los ambientes evaluados ($C > 1$).

2.3.5. CORRELACIÓN ENTRE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS

La matriz de correlaciones entre los caracteres fenológicos, morfológicos y agronómicos de las poblaciones evaluadas se presentan en la Tabla 2.15.

Las correlaciones más altas se dieron entre los caracteres fenológicos y morfológicos de planta. Todas estas variables están altamente correlacionadas entre sí, destacándose la relación entre las variables GDUF y GDUM ($r=0,99$), ALTPL y ALTMZ ($r=0,98$), ALTPL y NH ($r=0,90$).

A nivel de caracteres de la mazorca se observó una alta correlación positiva del DMZ con NHIL ($r=0,80$) y con LGR ($r=0,89$). El rendimiento se asoció significativamente con el DMZ ($r=0,85$), P1000 ($r=0,72$), LGR ($r=0,85$), NHIL ($r=0,54$) y GHIL ($r=0,59$). Y los caracteres de grano (LGR y GGR) mostraron una fuerte asociación negativa entre si ($r= -0,81$). A su vez, algunos de estos caracteres (DMZ, LGR y REND) presentaron una fuerte asociación positiva con el carácter fenológico GDMF.

Tabla 2.15. Matriz de correlaciones de Pearson para las variables agromorfológicas.

	GDUF	GDUM	ASI	GDMF	ALTPL	ALTMZ	INS	DT	NH	LMZ	DMZ	NHIL	GHIL	AGR	LGR	GGR	AHB	AHE	P1000	REND	GR/PL	PMAR	PORQ	PORV	PROL
GDUF	1																								
GDUM	0.99***	1																							
ASI	0.93***	0.86***	1																						
GDMF	0.90***	0.91***	0.78***	1																					
ALTPL	0.88***	0.87***	0.82***	0.78***	1																				
ALTMZ	0.91***	0.90***	0.82***	0.85***	0.98***	1																			
INS	-0.90***	-0.92***	-0.78***	-0.93***	-0.83***	-0.91***	1																		
DT	0.83***	0.82***	0.76***	0.79***	0.70***	0.76***	-0.81***	1																	
NH	0.97***	0.97***	0.86***	0.90***	0.90***	0.93***	-0.92***	0.85***	1																
LMZ	-0.05	-0.08	0.03	-0.06	-0.08	-0.08	0.10	0.03	-0.05	1															
DMZ	0.51**	0.54**	0.38**	0.70***	0.46**	0.53**	-0.62***	0.52**	0.55**	-0.47**	1														
NHIL	0.32	0.32	0.30	0.43	0.21	0.27	-0.37	0.33	0.30	-0.61***	0.80***	1													
GHIL	0.56**	0.55**	0.54**	0.56**	0.55**	0.56**	-0.52**	0.49**	0.51**	0.40	0.23	-0.004	1												
AGR	0.08	0.14	-0.06	0.17	0.13	0.14	-0.15	0.16	0.17	0.49	-0.02	-0.54	0.08	1											
LGR	0.63***	0.65***	0.51**	0.80***	0.66***	0.72***	-0.73***	0.63***	0.67***	-0.42**	0.89***	0.64***	0.47**	-0.06	1										
GGR	-0.59**	-0.59**	-0.53**	-0.59**	-0.62***	-0.64***	0.61***	-0.52**	-0.56**	0.38	-0.56**	-0.40**	-0.66**	0.27	-0.81***	1									
AHB	0.70***	0.69***	0.63***	0.73***	0.56***	0.64***	-0.74***	0.67***	0.66***	0.03	0.54	0.37	0.67***	0.03	0.62***	-0.63***	1								
AHE	0.92***	0.91***	0.86***	0.84***	0.83***	0.86***	-0.87***	0.83***	0.93***	0.10	0.44	0.22	0.51	0.22	0.53**	-0.45**	0.78***	1							
P1000	0.41	0.46	0.26	0.61**	0.55**	0.57**	-0.54**	0.46**	0.53**	0.01	0.60**	0.08	0.29	0.62***	0.66***	-0.31**	0.34	0.47	1						
REND	0.53**	0.56**	0.41**	0.76***	0.50**	0.58**	-0.65***	0.57**	-0.05	0.85***	0.54	0.59	0.19	0.85***	-0.58**	0.65***	0.50**	0.72***	0.72***	1					
GR/PL	0.48	0.46	0.49	0.56	0.35	0.42	-0.52**	0.51**	0.42	-0.26	0.66**	0.83***	0.42	-0.47**	0.62***	-0.54**	0.57**	0.40	0.04	0.64***	1				
PMAR	-0.35	-0.42	-0.17	-0.51**	-0.31**	-0.37**	0.47**	-0.30**	-0.39**	0.21	-0.44	-0.24	-0.47**	0.04	-0.63***	0.87***	-0.25**	-0.16	-0.36**	-0.54**	-0.34**	1			
PORQ	-0.50	-0.56	-0.29	-0.62***	-0.35**	-0.40**	0.52**	-0.37**	0.47**	0.27	-0.61***	-0.38**	-0.42**	-0.07	-0.60***	0.56**	-0.36**	-0.30**	-0.31**	-0.62***	-0.47**	0.71***	1		
PORV	0.42	0.38	0.48**	0.34**	0.31**	0.34**	-0.40**	0.56**	0.42**	-0.21	0.17	0.27	0.01	-0.29	0.27	-0.34**	0.18	0.38**	-0.11	-0.06	0.27	-0.14	-0.10	1	
PROL	-0.46	-0.47	-0.37	-0.55**	-0.58**	-0.58**	0.48**	-0.40**	-0.53**	0.34	-0.71***	-0.49**	-0.32**	0.07	-0.78***	0.59**	-0.44**	-0.38**	-0.58**	-0.62***	-0.28**	0.38**	0.31**	-0.12	1

En negrita se muestran las correlaciones más importantes.

2.4. DISCUSIÓN

2.4.1. AMBIENTES DE EVALUACIÓN

En los ambientes donde las condiciones edáficas y climáticas fueron más favorables para el desarrollo del cultivo pudo observarse un mayor crecimiento vegetativo y mayor sincronía entre las floraciones masculinas y femeninas, mayor longitud de mazorca y mayor rendimiento, peso de mil, número de hileras y granos por hilera en las mazorcas. La mejor disponibilidad de nutrientes en tales ambientes en los momentos de mayor demanda del cultivo habría permitido un buen desarrollo foliar alrededor de floración, una eficiente interceptación de la radiación incidente en la

canopia, una alta eficiencia de conversión de esa radiación capturada en crecimiento y una buena partición de dicho crecimiento hacia las mazorcas, posibilitando un buen estado fisiológico del cultivo durante el período crítico para la determinación del rendimiento (Andrade *et al.*, 1996; Dreccer *et al.*, 2003).

Teniendo en cuenta que para la conducción de los ensayos se utilizó el sistema de manejo tradicional empleado por los productores locales (labranza convencional, siembra manual y sin aplicación de fertilizantes) y que las condiciones edáficas de los sitios de evaluación representaron diversas situaciones contrastantes a nivel de los nutrientes principales (N y P), situación frecuente en la región, es posible suponer que las deficiencias de Nitrógeno durante las etapas tempranas del desarrollo del cultivo en los ambientes II y IV se tradujeron en un menor crecimiento del cultivo debido a una reducción del área foliar y eficiencia de intercepción y uso de la radiación disponible, y también en cambios fenológicos tales como retrasos en la ocurrencia de las floraciones y aumento de la asincronía floral (Andrade *et al.*, 1996). En este sentido, se han indicado que valores limitantes de nitrógeno para el desarrollo del cultivo producen aumento de la asincronía floral, reportándose retrasos de hasta 9 días para las fases vegetativas y de hasta 11 días para la aparición de estigmas cuando el estrés nitrogenado se produce durante el primer mes después de la siembra (Girardin *et al.*, 1987; Uhart y Andrade, 1995a). La deficiencia de este elemento produce importantes mermas en los rendimientos por reducción tanto del número de granos como del peso de los mismos (Uhart y Andrade, 1995b). Los componentes del rendimiento más afectados son la cantidad de espigas por planta y los granos logrados por óvulo diferenciado. Asimismo, al aumentar el intervalo entre anthesis y la aparición de estigmas podría limitarse la fertilización de los óvulos (Uhart y Andrade, 1995a, b), la que en situaciones de estrés se ve agravada por la generación de estructuras abortivas que se pierden incluso ante la presencia de polen fresco y viable (Westgate y Boyer, 1986; Otegui *et al.*, 1995). Además, ha sido reportado que la cantidad y disponibilidad de Fósforo se relaciona con mermas importantes de los rendimientos a través de la reducción del número de granos, aunque sin efectos notorios sobre el peso de los mismos (Andrade *et al.*, 1996).

La elección de ambientes con diferente historial de uso agrícola y situaciones nutricionales contrastantes permitieron poner en relieve el profundo impacto que tiene la diversidad ambiental existente en la provincia y el sistema de manejo empleado por los agricultores sobre el potencial productivo de los materiales (Tabla 2.8). La utilización de un sistema agrícola convencional basado en un criterio de explotación netamente extractivo tiene además grandes efectos sobre el recurso edáfico, provocando la degradación física, química y biológica del suelo, incrementando las superficies con problemas de erosión hídrica y ocasionando la pérdida paulatina de la productividad de los suelos (Salinas, 1996; Acevedo y Martínez, 2003). La producción de alimentos y forrajes afecta los ecosistemas, sin embargo para conseguir la sostenibilidad a largo plazo es necesario preservar la calidad de los recursos naturales (García, 2004). Los métodos de producción con labranza mínima o sin labranza han mejorado considerablemente las condiciones del suelo al reducir los procesos de erosión y la tasa de oxidación de la materia orgánica lo que se traduce en un incremento de la productividad al aumentar el contenido de C del suelo (Acevedo y Martínez, 2003; Martínez *et al.*, 2008; Reicosky y Saxton, 2008). De esta manera, la utilización de sistemas que contemplen el uso de siembra directa, rotación y fertilización adecuados permitirá mantener y/o alcanzar contenidos de materia orgánica sustentables para la producción agrícola (García, 2004).

2.4.2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS POBLACIONES

La mayoría de los caracteres mostraron un amplio rango de variación, lo que era de esperar al trabajar con poblaciones locales de gran variabilidad genética. La generación y conservación de la misma está asociada a la multiplicidad de ambientes y técnicas de producción, el aislamiento geográfico, la recombinación entre poblaciones aledañas, el flujo de semillas entre localidades y la selección realizada por los agricultores para caracteres asociados al rendimiento o usos específicos (Brandolini y Brandolini, 2001; Pressoir y Berthaud, 2004; Martínez *et al.*, 2006; González Huerta *et al.*, 2008; Defacio, 2009).

Para la mayoría de las variables evaluadas se registraron altos valores de Coeficientes de Variación (CV), lo que podría explicarse por la elevada variabilidad genética intrapoblacional, característica de variedades de polinización abierta. Particularmente, los elevados CV registrados para los caracteres de asincronía floral y porcentaje de quebrado y volcado podrían explicarse por el bajo valor medio obtenido. Para disminuir dicho coeficiente se recomienda aumentar el tamaño de la unidad experimental y el número de plantas evaluadas por parcela, aunque en muchos casos esto no representa una opción viable debido al gran número de materiales en evaluación y al incremento del tiempo, espacio y costos asociados (Defacio, 2009). Por otra parte, numerosos autores consideran a muestras de tamaño similares a las empleadas en este estudio como apropiadas para determinar el valor de cada réplica y población (Gouesnard *et al.*, 1997; Alfaro y Segovia, 2000; Ruiz de Galarreta y Alvarez, 2001; Pinheiro de Carvalho *et al.*, 2008; Defacio, 2009).

Las poblaciones locales mostraron un rango de variación más amplio que los testigos para todas las variables evaluadas, destacándose algunas que, en algunos de los casos evaluados, superaron o igualaron el desempeño de los testigos para muchas características de interés. Estos resultados están en concordancia con lo esperado al evaluar este tipo de materiales ya que, por lo general, las condiciones de cultivo y los criterios de selección utilizados por mejoradores y agricultores son distintos. Comúnmente, el mejoramiento formal se ha enfocado en la producción en condiciones óptimas de cultivares más uniformes, con alto potencial de rendimiento y buen comportamiento agronómico (tolerancia a vuelco y estreses bióticos y abióticos). En contraparte, la agricultura tradicional está caracterizada por la gran variabilidad de ambientes de producción, la diversidad intra e intervarietal y la multiplicidad de criterios de selección (Almekinders y Elings, 2001). El orden de prioridades o peso que les asignan los agricultores a diferentes caracteres es extremadamente variable y se encuentra relacionado con la gran heterogeneidad ambiental, socioeconómica y cultural presentes en estos contextos productivos (Ferro *et al.*, 2008). Así, por ejemplo, en un sistema de producción de bajos insumos en ambientes muy variables, donde las pérdidas poscosecha pueden alcanzar hasta un 35%, la reducción de estas pérdidas constituye el objetivo primario de selección, en tanto que los componentes de rendimiento y la resistencia al vuelco se utilizan como criterios secundarios para elegir sus variedades recién una vez satisfechas sus expectativas respecto a su objetivo principal (Ferro *et al.*, 2008). En sistemas productivos con claras diferencias socioeconómicas y culturales, los campesinos seleccionan atributos tales como altura de inserción de la mazorca, longitud del ciclo del cultivo, grosor del tallo, número de mazorcas, color de granos, tamaño, cierre y llenado de mazorca (Fernández *et al.*, 2003).

La existencia de poblaciones entre las evaluadas que superaron o igualaron el desempeño de los testigos pone en evidencia el potencial genético presente en estas poblaciones, lo que permitirá su revalorización como recursos de uso directo por parte de las comunidades autóctonas así como insumo para el mejoramiento. Por otra parte, considerando la gran diversidad presente en variables fenológicas, vegetativas y componentes de rendimiento, la intensificación de la presión de selección sobre estos caracteres podría mejorar las características agronómicas de estas poblaciones.

2.4.3. EVALUACIÓN DE LA VARIABILIDAD ENTRE POBLACIONES

Para la mayoría de los caracteres estudiados se encontraron diferencias significativas o altamente significativas entre los genotipos en todos los ambientes de evaluación, indicando la existencia de una importante variabilidad genética en la colección de trabajo.

La variable prolificidad no mostró efectos significativos en los ambientes II y IV. Este carácter es, en general, genotipo dependiente pero está muy afectado por las condiciones ambientales y las técnicas de manejo empleadas (Corcuera, 2012). Ambientes no restrictivos, bien provistos de nitrógeno y densidades menores favorecen el desarrollo de un mayor número de espigas productivas (Ritchie y Alagarswamy, 2003). Precisamente, los ambientes II y IV presentaron suelos con valores altamente limitantes de Materia Orgánica, Nitrógeno y Fósforo, lo que sumado a un esquema productivo de bajos insumos podría impedir la expresión del potencial presente en algunas poblaciones para generar mayor número de espigas por planta. Para los caracteres diámetro del tallo, proporción de marlo, porcentaje de quebrado y volcado los niveles de significación varían según el ambiente o bien no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, lo que estaría relacionado con la fuerte influencia ambiental sobre estas variables.

Las diferencias entre poblaciones y ambientes de evaluación resultaron altamente significativas en el Anova multifactorial para todos los caracteres evaluados, a excepción del porcentaje de quebrado que solo tuvo diferencias significativas entre las poblaciones (Tabla 2.13). Asimismo, se detectó la presencia de interacción GxA significativa para un gran número de caracteres debido, posiblemente, a la disimilitud edáfica y climática existente entre las localidades donde se realizaron los ensayos de evaluación. El conocimiento de dicha componente es uno de los aspectos más relevantes en cualquier etapa de un programa de mejoramiento ya que, si bien constituye un fenómeno perturbador, una vez dimensionado y definidos sus mecanismos más relevantes puede aprovecharse ventajosamente desde el punto de vista de la mejora genética (Mariotti, 1994). La existencia de GxA indica que los materiales no presentaron igual respuesta a todos los ambientes, denotando plasticidad en su comportamiento y/o adaptabilidad específica de ciertos materiales a ciertas condiciones ambientales. La presencia de este fenómeno introduce incertidumbre en el proceso de selección ya que si el componente de interacción GxA es grande se tenderá a seleccionar tipos fuertemente adaptados a la localidad de selección que quizás no sean capaces de reproducir sus cualidades cuando sean probados en otras localidades (Cooper y DeLacy, 1994; Mariotti, 1994; De la Vega *et al.*, 2001). El empleo de un mayor número de ambientes de evaluación permitiría una mayor eficiencia de selección de estos caracteres así como la posibilidad de adaptación a una zona más amplia.

2.4.4. ESTIMACIÓN DE LOS COMPONENTES DE VARIANZA Y PARÁMETROS GENÉTICOS

La mayoría de los atributos fenológicos, vegetativos y agronómicos evaluados mostraron valores moderados de heredabilidad ($0,30 < H^2 < 0,60$) según la clasificación propuesta por Robinson *et al.* (1949), destacándose por sus elevados registros ($H^2 > 0,80$) los caracteres de mazorca y grano DMZ, NHIL, AGR, LGR y GGR. Estos valores aunque de menor magnitud se corresponden en líneas generales con lo citado por otros autores. Álvarez y Lasa (1987) y Gouesnard *et al.* (1997) encontraron heredabilidades mayores a 0,75 para la mayoría de las variables evaluadas en el presente estudio. En tanto que Ruiz de Galarreta y Álvarez (2001), obtuvieron valores más elevados para caracteres de mazorca, longitud del ciclo y vegetativos. Los caracteres relacionados con la producción, tales como rendimiento en grano y peso de mil granos muestran mayores divergencias en la literatura, reportándose tanto valores altos (Álvarez y Lasa, 1987; Gouesnard *et al.*, 1997; Defacio, 2009) como valores bajos (Ruiz de Galarreta Gómez, 1993).

Dado que la magnitud de los caracteres agromorfológicos varía según los ambientes de evaluación, resulta de gran interés determinar el nivel de estabilidad de los descriptores a utilizar. Un buen estimador de ello es la repetibilidad o constancia (Corcuera, 2012). Menores valores de constancia ($C < 1$), evidencian una mayor influencia del ambiente y de la interacción GxA en la expresión de dichos atributos, lo que se asociaría con cierto grado de plasticidad fenotípica. Esta característica constituye una parte importante de la habilidad de las plantas a sobrevivir en condiciones ambientales heterogéneas, permitiendo amortiguar el efecto de la variación ambiental a corto plazo y responder favorablemente a la gama de condiciones ambientales que han experimentado en tiempos evolutivos recientes, lo que resulta sumamente importante para los pequeños agricultores de áreas marginales (Aulicino y Arturi, 2002).

En el presente trabajo los caracteres más estables correspondieron a caracteres de mazorca y grano: diámetro de mazorca, número de hileras, ancho, largo y grosor de grano (Tabla 2.14). Estos resultados indican un efecto preponderantemente genético de dichos atributos, por lo que podría esperarse una respuesta favorable al seleccionar para estos caracteres en ambientes similares. Por su parte, los caracteres vegetativos mostraron una menor estabilidad en concordancia con lo reportado por Goodman y Paterniani (1969), Herrera Cabrera *et al.* (2000) y Ruiz de Galarreta y Alvarez (2001). En líneas generales, los caracteres con mayores valores de constancia se correspondieron con los reportados por Goodman y Paterniani (1969) y Herrera Cabrera *et al.* (2000). En tanto que Álvarez y Lasa (1987), Álvarez Rodríguez (1988) y Ruiz de Galarreta y Álvarez (2001) presentaron en general, valores más elevados que los reportados en este trabajo para el conjunto de caracteres. Estas diferencias de magnitud podrían explicarse principalmente por el grado de amplitud de la diversidad genética evaluada y por el muestreo de ambientes. Por lo general, la caracterización de poblaciones provenientes de una región de poca amplitud geográfica, en que los maíces corresponden a una sola raza o complejo racial, tienden a presentar menores valores de constancia con respecto a los obtenidos en estudios de comparación racial (Herrera Cabrera *et al.*, 2000). Además, las diferencias observadas pueden ser atribuibles a la existencia de una mayor magnitud de las interacciones y un valor más elevado del componente ambiental de la variación.

Varios caracteres presentaron un elevado valor de la componente del error. Esto podría corregirse incrementando el número de repeticiones, aunque una decisión más eficiente sería incrementar el número de ambientes divergentes, ya que de esta manera se estaría reduciendo la varianza asociada a dos componentes, del error y de la interacción GxA (Fehr, 1987). Por lo general, esto no es posible en la práctica ya que los costos asociados son más elevados y las estimaciones de la varianza genética poblacional no son extrapolables a otro ensayo, ambiente o población (Mariotti, 1994). Por lo tanto, se considera conveniente mantener el número de ambientes y repeticiones en evaluaciones preliminares que suponen mayor cantidad de materiales a evaluar y, una vez detectados y seleccionados grupos y/o genotipos de interés, ampliar el número de ambientes divergentes que permitan la expresión del potencial y/o caracteres diferenciales de las poblaciones.

2.4.5. CORRELACIÓN ENTRE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS

A pesar de que en el maíz existe un desfase entre la floración masculina y femenina, estos caracteres están muy correlacionados ($r=0,99$). Resultados similares fueron reportados en la evaluación de poblaciones locales de maíz en España (Ruiz de Galarreta y Alvarez, 1990), Venezuela (Alfaro y Segovia, 2000) y Argentina (Defacio, 2009). En ambientes más uniformes, se considera suficiente registrar uno de ellos, cuando la toma de datos está limitada por tiempo y/o recursos económicos (Herrera Cabrera *et al.*, 2000). Sin embargo, para ambientes marginales donde las condiciones edafoclimáticas son menos favorables, la medición del desfase floral (ASI) resulta sumamente importante, ya que es considerado un indicador sensible y heredable de la partición a la espiga en crecimiento durante floración y un índice de la tolerancia al estrés (mayor tolerancia del genotipo, menor incremento del ASI ante un mismo estrés) (Edmeades *et al.*, 1997a, b). Un ASI largo es asociado generalmente con susceptibilidad a sequía y deficiencias nutricionales, esterilidad, bajo índice de cosecha, crecimiento lento de la espiga. En tanto que un ASI corto se asocia con flores que crecen más rápidamente en anthesis y que son más tolerantes a reducciones de la fotosíntesis causadas por sequía u otros estreses.

Existe a su vez una alta correlación entre altura de planta y de inserción de la mazorca ($r=0,98$). Plantas más altas presentan mayor altura de inserción de la primer espiga. Este resultado está en línea con el obtenido por otros autores como Ruiz de Galarreta y Alvarez (1990) ($r=0,88$), Ruiz de Galarreta Gómez (1993) ($r=0,92$), Alfaro y Segovia (2000) ($r=0,92$), Defacio (2009) ($r=0,83$) y Martínez *et al.* (2010) ($r=0,80$). La relación entre estos caracteres cobra importancia para los productores locales, teniendo en cuenta la preferencia de los mismos por variedades de porte alto y al tipo de cosecha empleado (manual). A su vez, la altura de planta se correlacionó con el diámetro del tallo ($r=0,70$) y con el número de hojas ($r=0,90$). Por lo general, los productores asocian caracteres como el diámetro de tallo, altura de planta y de inserción de mazorca con la resistencia al vuelco (Acosta *et al.*, 2007), en tanto que el mejorador busca obtener plantas con menor altura de inserción de la espiga para disminuir también los porcentajes de vuelco, por lo cual, esta variable adquiere una marcada importancia regional y para el mejoramiento.

Las variables fenológicas y morfológicas de planta mostraron correlaciones importantes entre sí (entre 0,87 y 0,97). Estos resultados, aunque algo inferiores, concuerdan con los obtenidos por Ruiz de Galarreta Gómez (1993), Alfaro y Segovia (2000) y por Brandolini y Brandolini (2001). En general, las poblaciones de ciclo largo

presentan mayor número de hojas, altura de planta y de inserción de mazorca, y disponen de mayores períodos de tiempo para acumular biomasa.

A su vez el rendimiento y sus componentes están estrecha y positivamente correlacionados con la biomasa total producida durante el ciclo, tal como puede observarse en los resultados del presente trabajo (Louette y Smale, 2000; Dreccer *et al.*, 2003). El rendimiento en maíz se asocia con el número de granos logrados por unidad de superficie (Andrade *et al.*, 1996). Este componente de rendimiento depende de la radiación interceptada o la tasa de crecimiento del cultivo en un período centrado en floración (Andrade *et al.*, 2000; Cantarero *et al.*, 2000). Reducciones en la tasa de crecimiento durante dicho período tienen gran impacto en el rendimiento en grano al afectar el número de mazorcas por planta y el número de granos por mazorca. La tasa de crecimiento de la planta depende del genotipo y del ambiente (densidad, radiación, temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes) (Andrade *et al.*, 2000). El agua y el nitrógeno afectan el desarrollo reproductivo al controlar la capacidad de utilización del carbono por parte del grano. Las deficiencias en ambos factores durante el período crítico reducen la partición de materia seca a la espiga y/o el número de granos por unidad de materia seca translocada a la espiga (Andrade *et al.*, 2000).

El número de granos por mazorca se determina en el período inmediatamente posterior a la floración del cultivo y puede continuar hasta 2 o 3 semanas después (Kiniry y Ritchie, 1985; Andrade *et al.*, 1996; Cantarero *et al.*, 2000). La disminución del número de granos por espiga se debe al aborto de granos (o espiguillas) después de la emergencia de los estigmas (Cirilo y Andrade, 1994; Andrade *et al.*, 2000) y se relaciona con el estado fisiológico de la planta en floración (Andrade *et al.*, 1996; Cantarero *et al.*, 2000; Andrade *et al.*, 2002). En tanto que los procesos morfogenéticos que determinan el número de hileras de la mazorca y el número de granos por hilera son relativamente insensibles a variaciones ambientales y de manejo (Andrade *et al.*, 2000). A nivel de caracteres morfológicos de la mazorca se destacó la correlación entre el diámetro de la mazorca y el número de hileras que presenta ($r=0,80$). Mazorcas de mayor diámetro presentaron más hileras de granos. En tanto que el rendimiento estuvo asociado positivamente con el peso de mil granos ($r=0,72$), el diámetro de la mazorca ($r=0,85$), el número de hileras ($r=0,54$) y el número de granos por hilera ($r=0,59$). Estas correlaciones encontradas son importantes dado que muchos de estos caracteres influyen directamente en el rendimiento del maíz, son de fácil medición, no requieren de equipamientos especiales para su medición y son usados frecuentemente por investigadores y agricultores para seleccionar los genotipos de interés. Por lo general, los agricultores no emplean valores de rendimiento y peso de mil granos para seleccionar sus variedades, sino que utilizan caracteres fácilmente discernibles como tamaño, llenado y forma de la mazorca; número de hileras y de granos por hilera; largo, diámetro y peso de la mazorca. De esta manera, al seleccionar considerando alguno de estos caracteres, están influyendo indirectamente sobre el rendimiento y el peso del grano (Acosta *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2010).

2.5 CONCLUSIONES

Las poblaciones de maíz colectadas en la provincia de Misiones presentaron una gran variabilidad para los caracteres morfológicos, fenológicos y agronómicos evaluados.

La presencia de poblaciones locales que superaron o igualaron el desempeño agronómico de los testigos mejorados pone en evidencia el potencial genético del germoplasma local.

La gran diversidad ambiental de la provincia, sumado a un enfoque productivo de bajos insumos, impacta sobre el potencial productivo de los materiales, los que responden de manera diferencial en base a su plasticidad fenotípica y/o adaptabilidades específicas, poniendo en relieve procesos fisiológicos relacionados con el desarrollo foliar, la interceptación de la radiación, la eficiencia de conversión y la partición de biomasa a las espigas.

La identificación de caracteres de fácil evaluación y medición como diámetro de mazorca y número de hileras, con un alto grado de determinación genética y asociación con el rendimiento, estimula su empleo en programas de mejoramiento formales e informales.

En el presente capítulo se analizó la variabilidad agromorfológica presente en 16 poblaciones locales de maíz evaluadas en el contexto ambiental y productivo de la provincia de Misiones, identificandose poblaciones que superaron o igualaron el desempeño agronómico de los testigos, poniendo en relieve el potencial genético del germoplasma local y la existencia de variabilidad en los caracteres evaluados. Los siguientes capítulos de esta tesis se centrarán en la evaluación de la calidad nutricional de dichas poblaciones (Capítulo 3) y la clasificación de las mismas a través de técnicas multivariadas que permitirán analizar la relación entre poblaciones y los patrones de estructuración de la diversidad colectada (Capítulo 4), sentando las bases para futuros programas de mejoramiento locales y el desarrollo de técnicas eficientes de conservación de los recursos genéticos locales.

CAPITULO 3

ANÁLISIS DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES

3.1. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays*, L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes a nivel mundial. Es utilizado para la alimentación humana y animal, en forma de grano o forraje, además de sus múltiples aplicaciones industriales (Martínez Cruz, 2011; Singh *et al.*, 2014). Como todos los cereales, es rico en carbohidratos y desequilibrado en proteína, vitaminas y minerales (Díaz Coronel *et al.*, 2009; Corcuera, 2012). Estructuralmente, el grano está formado por el endosperma (80-85%), el pericarpio (5-6%) y el germen o embrión (9-10%) (Chaudhary *et al.*, 2014). Los granos de maíz contienen en su mayor parte almidón (61-78%) y en menor proporción proteínas (6-12%), aceite (3,1-5,7%), cenizas (1,1-3,9%) y azúcar (1-3%) (Watson, 2003). Las fibras y cenizas están concentradas en el pericarpio, en tanto que el germen presenta altos niveles de aceite y proteína, y el endosperma contiene todo el almidón y el 70% o más de la proteína total (Rooney *et al.*, 2004; Lee, 2009).

El almidón es la mayor fuente de energía y calorías de la dieta humana, típicamente los adultos requieren de aproximadamente 200 g de carbohidratos diarios para facilitar la función cerebral y muscular. Tiene múltiples aplicaciones ya sea como modificador de textura, agente espesante y/o materia prima para la producción de otros ingredientes y productos alimenticios (Niba, 2005). Es el componente principal del grano de maíz ($\frac{3}{4}$ partes del peso seco del grano), está formado por dos polímeros de la glucosa, la amilopectina y la amilosa, que difieren en la longitud de cadena y el grado de ramificación (Pollak y Scott, 2005; Singh Sandhu y Singh, 2007). La amilopectina que constituye cerca del 75% del gránulo de almidón presenta más flexibilidad y resistencia, por lo que materiales con alta proporción de este polímero son usados comúnmente en la elaboración de fideos y productos horneados (Niba, 2005). La amilosa que constituye aproximadamente un 25% del gránulo, es un componente clave en la absorción de agua y gelificación del almidón en el procesamiento de alimentos (Niba, 2005). Teniendo en cuenta las diferentes propiedades físicas de estos polímeros, la proporción de los mismos desempeña un rol fundamental en el procesamiento y las aplicaciones del almidón, por lo que los esfuerzos del mejoramiento se han centrado en la modificación de dichas proporciones (Pollak y Scott, 2005). Existen genes que alteran la relación de estos polímeros, los genes *waxi* y *amilose extender*, que modifican el grado de ramificación del almidón y por tanto originan variaciones en sus propiedades funcionales y en sus espectros de usos (Robutti *et al.*; 2000; Robutti, 2004). Otro objetivo importante para el mejoramiento es el aumento de almidón extraíble durante la molienda húmeda (Pollak y Scott, 2005). En este sentido, se han detectado variaciones entre poblaciones para este parámetro, aunque por lo general, las poblaciones exóticas presentan un menor rendimiento de molienda comparados con híbridos comerciales, esto se debe a la tendencia de estos materiales a presentar una menor cantidad de almidón y un mayor contenido de proteínas y aceites (Singh *et al.*, 2001).

Aproximadamente el 85% del aceite de maíz está concentrado en el germen, mientras que el restante se encuentra disperso en el endosperma y pericarpio del grano (Chaudhary *et al.*, 2014). Un maíz normal provee entre 2-6% de aceite, mientras que un maíz de alto-aceite contiene más del 6% (Lambert, 2001; Song *et al.*, 2004). En promedio, el aceite de maíz contiene cerca del 10% de ácido palmítico, 2% de ácido esteárico, 25% de ácido oleico, 62% de ácido linoleico y 1% de ácido linolenico (Pollak y Scott, 2005). A pesar de que este nutriente no puede ser considerado deficiente en el grano de maíz, existe gran interés en aumentar la concentración del mismo, debido a

que le aporta al grano un mayor valor calórico (2.25 veces el del almidón), lo que permite una mayor ganancia de peso en aves, ganado lechero, cerdos y ovejas (Jugenheimer, 1961; Saleh *et al.*, 1997; Heiniger y Dunphy, 2001, Mittelman *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2014) además de reducir la necesidad de suplementación en la alimentación del ganado (Song *et al.*, 2004). Asimismo, el aceite de maíz es valorado debido a sus bajos niveles de ácidos grasos saturados y sus altos porcentajes de no saturados, lo que le otorga una mayor digestibilidad y menor riesgo de causar accidentes cardiovasculares (Mittelman *et al.*, 2011; Chaudhary *et al.*, 2014). Entre los atributos relacionados con la calidad para consumo humano resultan relevantes la disminución de la concentración de ácidos grasos saturados (<6%) y el aumento de la concentración de ácido oleico. Por otra parte, el aumento de saturados totales proporciona aceite "naturalmente" endurecido para la fabricación de margarina permitiendo minimizar el procesamiento y la producción de ácidos trans perjudiciales para la salud (Eyherabide *et al.*, 2005; Pollak & Scott, 2005; Duvick *et al.*, 2006). En numerosos estudios se ha encontrado una gran variación en la composición de ácidos grasos en germoplasma adaptado y exótico (Dunlap, 1995a, b). Teniendo en cuenta la existencia de variabilidad genética para estos componentes, la cantidad y calidad de los mismos podría ser alterada significativamente por selección, permitiendo dentro de ciertos límites el desarrollo de aceites especiales de maíz, cada uno con un patrón único de ácidos grasos (Pollak y Scott, 2005).

El adecuado balance de aminoácidos esenciales en los alimentos es fundamental en la nutrición animal y humana. El maíz presenta una baja calidad proteica, debido a su deficiencia de ciertos aminoácidos esenciales: lisina, triptófano y metionina (Gutiérrez-Rojas *et al.*, 2008; Díaz Coronel *et al.*, 2009; Kriz, 2009; Motto *et al.*, 2011; Hartings *et al.*, 2012; Chaudhary *et al.*, 2014). En un grano de maíz convencional entre el 50-60% de las proteínas de reserva son zeínas, las cuales están desprovistas prácticamente de lisina y triptófano, lo que hace al maíz nutricionalmente inferior en calidad proteica comparado con el arroz, trigo y otros cereales mayores (Bhatnagar, 2004). Teniendo en cuenta que los aminoácidos más limitantes en la dieta de no rumiantes y humanos son la lisina, seguida del triptófano y la treonina, el aumento de los mismos es un objetivo importante de los programas de mejoramiento. Al ser identificadas varias mutaciones naturales que confieren mayores niveles de estos aminoácidos, se pudieron iniciar programas tendientes a mejorar estas características, una de las más estudiadas es la mutación opaco-2 (Maddaloni *et al.*, 1989). El locus Opaco-2 (O2) situado en el cromosoma 7 codifica un activador transcripcional perteneciente a la familia de las proteínas con cremallera de leucina (Hartings *et al.*, 1989; Maddaloni *et al.*, 1996). La proteína funcional O2 activa la transcripción de varios genes: 22 kDa α -zeínas, 14 kDa β -zeínas, b-32 y cyPpdk1 (Lohmer *et al.*, 1991; Maddaloni *et al.*, 1996; Henry *et al.*, 2005). Al comparar el alelo salvaje (O2) con variantes recesivas (o2), se encontró regiones hipervariables en el extremo amino terminal del gen y en algunos casos grandes deleciones en la región codificante que provocan la terminación prematura del polipéptido (Bhatnagar, 2004). La proteína defectuosa resultante (o2) se asocia con una reducción significativa en la producción de la fracción de α -zeínas del endospermo y un aumento pleiotrópico en la proporción de proteínas no zeínas (fracciones I, IV y V) que en forma natural contienen niveles mayores de lisina y triptófano (Bhatnagar, 2004; Vivek *et al.*, 2008). Debido a que el gen opaco-2 es recesivo, su introgresión en líneas elites requiere de mucho trabajo, tiempo y recursos. Con el desarrollo de marcadores alelo-específicos basados en PCR (Polymerase Chain Reaction), tales como los SSRs y los Polimorfismos de Nucleótidos Simples (Single Nucleotide Polymorphism, SNPs, por su sigla en inglés), la selección asistida por marcadores se ha transformado en una

alternativa muy atractiva para caracteres de herencia simple, permitiendo aumentar la eficiencia de selección y acelerando el desarrollo de nuevos cultivares (Ribaut y Hoisington, 1998; Babu *et al.*, 2004, 2005). Existen actualmente tres marcadores SSRs disponibles para el estudio y la selección del alelo recesivo opaco-2: phi057, phi112 y umc1066. Los mismos se encuentran dentro del locus Opaco-2, lo que significa que existe una correlación muy alta entre la presencia de ciertas variantes de los marcadores y la expresión fenotípica del carácter (Dreher *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2004, Vivek *et al.*, 2008; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2009). El marcador phi112 se encuentra localizado entre la secuencia río arriba del gen y la UTR 5 prima del gen O2 y su mutación puede afectar la transcripción del mismo, en tanto que los SSRs umc1066 y phi057 se localizan en los exones 1 y 6 respectivamente⁴. Mutaciones en estos exones pueden aumentar o disminuir el número de prolinas y de esta manera afectar la estructura tridimensional de la proteína O2 y por tanto su actividad como activador transcripcional (Yang *et al.*, 2004). Teniendo en cuenta la ubicación de estos marcadores, el estudio de las variantes alélicas asociadas permitirá obtener una buena representación de la variabilidad presente dentro del locus Opaco-2 en el germoplasma local.

A pesar de la amplia diversidad de razas presentes en la provincia no existe información previa para caracteres de calidad en el germoplasma nativo en las condiciones ambientales y de manejos locales, ni trabajos previos de selección para dichos caracteres. Teniendo en cuenta el uso predominantemente alimenticio del maíz en la provincia, el mejoramiento de las propiedades nutricionales del grano tendría un valor significativo para el usuario final, permitiendo diversificar y otorgar valor agregado al cultivo, beneficiando a los agricultores sin la necesidad de modificar sus hábitos alimenticios. El contenido de aceite y proteínas, el balance de aminoácidos, la composición de ácidos grasos y las propiedades físicas del almidón constituyen objetivos importantes para el mejoramiento local debido al gran impacto que tienen en la alimentación animal, la salud y las aplicaciones industriales. Los objetivos de este capítulo fueron: 1) evaluar la calidad nutricional de poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones 2) evaluar la variabilidad genética del locus Opaco-2 en poblaciones locales de maíz e 3) identificar poblaciones con valor promisorio para el mejoramiento y/o uso directo.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. MATERIAL VEGETAL

Para la evaluación de los parámetros de calidad bioquímica y molecular, además de las 16 poblaciones locales de maíz originarias de la provincia de Misiones y los 3 testigos comerciales presentados en el capítulo 2 (Tabla 2.1) se incluyó un híbrido QPM (T21) proveniente del cruzamiento de dos líneas del CIMMYT (CML161 y CML165). Las dos líneas QPM (identificadas en este trabajo como T161 y T165) fueron utilizadas como patrón de referencia para la determinación de la presencia del alelo o2 en las poblaciones locales (Tabla 3.1).

⁴ El marcador phi112 se localiza entre la caja TATA y el marco de lectura abierto UTR 5 prima (Open Reading Frame, ORFs, en inglés), umc1066 se ubica en el exón 1, arrancando en el codón de inicio y phi057 se ubica en el exón 6 (44pb del inicio del mismo) (Henry y Damerval, 1997).

Tabla 3.1. Características relevantes de las líneas QPM.

CARACTERÍSTICAS	LÍNEA CML 161 (T161)	LÍNEA CML 165 (T165)
Origen	Población P25 QPM	Población 66
Genealogía	G25Qc18MH520-1-1#-1-2#-5-3- B-1-B-B-B-B-#	Pob66c1HC144-3-1-1-B-B-1-B- B-#
Color de grano	Amarillo	Amarillo
Textura de grano	Flint	Dentado
Adaptación y madurez	Tropical, tardío	Tropical, tardío
Contenido de Proteína (%)	11,2	11,1
Contenido de Triptófano (%)	0,8	0,8

Extraído de la base de datos del CIMMYT (<http://www.cimmyt.org/en/what-we-do/germplasm-and-seed/obtainseed?>)

3.2.2. ANÁLISIS DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES

3.2.2.1. Obtención de muestras

Las muestras utilizadas para el análisis de la calidad nutricional se obtuvieron por cruzamientos controlados para evitar la influencia de polen foráneo sobre la composición química del grano. Para la obtención de dichas muestras, se instaló un ensayo en la Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul (27° 39' de LS y 55° 26' LW) en la campaña 2012/13, sobre un suelo Argiudol óxico del Orden de los Molisoles, correctamente barbechado.

Los materiales se sembraron en un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones. La unidad experimental consistió en una parcela de dos surcos, de cinco metros de longitud distanciados 0,70 m entre sí. La densidad final fue de aproximadamente 57.200 plantas/hectárea. La siembra se realizó el 12 de octubre de forma manual, alcanzándose la emergencia de todos los materiales el 19/10/2012.

El suelo presentó altos contenidos de bases (Ca, K y Mg) y valores limitantes de materia orgánica, fósforo y nitrógeno (Tabla 3.2). Teniendo en cuenta la influencia de la disponibilidad de nutrientes principales (N) sobre la velocidad de aparición de estigmas y la sincronía floral (Girardin *et al.*, 1987; Uhart y Andrade, 1995a) y con el fin de cubrir los requerimientos de nutrientes del cultivo y asegurar una correcta obtención de muestras por cruzamientos controlados, se realizó una fertilización a la siembra con 200 kg/ha de fosfato diamónico (18-46-0) y en estadio V4 con 200kg/ha de Urea.

Tabla 3.2. Características químicas del suelo del sitio de evaluación.

Característica	Valores
MO (%)	1,80
N (%)	0,13
P2O5 (ppm)	6,73
K (meq/100g)	0,22
Ca (meq/100g)	15,29
Mg (meq/100g)	4,23
pH Agua	5,65
Relación C/N	7,81

Para el control de malezas se aplicaron herbicidas de preemergencia en la totalidad de los ensayos (3 l/ha de atrazina 50%), volviéndose a aplicar 2 l/ha de atrazina 50% en estado vegetativo previo a V6 (sexta hoja totalmente desplegada). Además, se emplearon métodos manuales de remoción de malezas cuando se consideró necesario. Para el control de insectos del suelo y nematodos se utilizó Cipermetrina (250 cc/ha) al momento de siembra y a los 20 días post-emergencia. Para prevenir el daño causado por el ataque de pájaros se trató la semilla con un repelente antipájaro (Antranilato de Metilo 30% p/v) al momento de la siembra.

Las muestras de grano para la determinación de los parámetros de calidad se obtuvieron mediante polinización controlada (cruzamientos planta a planta dentro de una misma población). Para la obtención de una muestra representativa se requirió la polinización de al menos diez plantas de cada población (por repetición). Para ello, se cubrió con bolsas de papel la flor femenina antes de la emergencia de los estigmas. La polinización fue llevada a cabo colectando anteras maduras y esparciendo el polen sobre los estigmas receptivos. Finalmente, se cubrió con bolsa de papel hasta el momento de recolección para evitar polinizaciones indeseadas, dejando espacio suficiente para el desarrollo de las mazorcas (Figura 3.1).

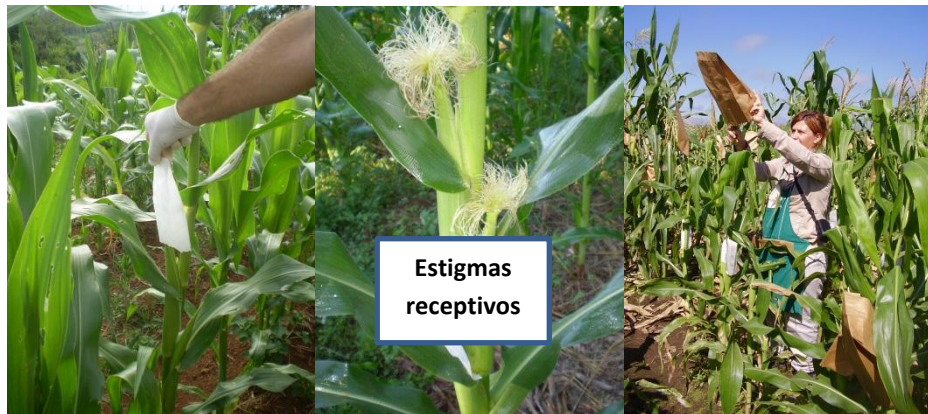


Figura 3.1. Técnica de cruzamientos controlados

La cosecha de los materiales se realizó luego de alcanzada la madurez fisiológica, con una humedad entre el 20 y 25%. Las mazorcas cosechadas se dejaron secar a la sombra, sobre zarandas que permitieron el paso del aire hasta alcanzar una humedad próxima al 14%. Para el armado de cada muestra se tuvo especial precaución de seleccionar espigas granadas adecuadamente. Las mismas se desgranaron de forma manual, tomándose igual cantidad de grano por planta y armándose un pool para todas las semillas pertenecientes a una misma población y repetición. Para el análisis de la composición relativa de ácidos grasos se extrajeron 20 granos del centro de la espiga.

3.2.2.2. Caracteres evaluados

La composición nutricional se llevó a cabo a través del análisis del contenido y/o calidad de los distintos constituyentes: proteína, almidón, amilosa y aceite. Se determinó el perfil de ácidos grasos del aceite. Los análisis químicos fueron realizados por el Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Agua (EEA Pergamino), dentro de los doce meses de cosechada cada muestra, utilizando métodos validados por la A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists).

3.2.2.2.1. Concentración de proteínas (PRO)

Las proteínas totales se midieron por el método de micro Kjeldhal utilizando la metodología descrita por la Asociación Americana de Química de Cereales, Método AACC 46-13 (AACC, 1995). Esta técnica permite cuantificar el nitrógeno en muestras solubles e insolubles. Dado que el nitrógeno presente en cereales se deriva principalmente de proteína y que la composición de aminoácidos de las proteínas del endosperma es constante, es posible fijar la proporción nitrógeno/proteína de un cereal mediante la siguiente fórmula (Vivek *et al.*, 2008):

$$\% \text{ proteína} = \% \text{ nitrógeno} \times 6,25$$

Siendo 6,25 el factor de conversión del maíz.

3.2.2.2.2. Concentración de aceite (ACE)

El contenido de aceite se midió por extracción continua con solvente utilizando el sistema de Twisselman, según el Método AACC 30-25 (AACC, 1995). Se pesaron 5 g de muestra finamente molida en un cartucho de celulosa y se extrajo el aceite con hexano (calidad analítica, Sintorgan) en caliente a reflujo durante 6 horas. El procedimiento se repitió tres veces con distintas alícuotas de la misma muestra para reducir el error en la pesada de la masa de aceite. El contenido de aceite se determinó por pesada en una balanza analítica luego de evaporar el hexano.

El porcentaje de extracto etéreo se calculó de la siguiente manera:

$$\% EE = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

3.2.2.2.3. Concentración de almidón (ALM) y amilosa (AMI)

Se utilizó como medida del contenido de almidón al contenido de carbohidratos totales (azúcares simples, oligosacáridos, polisacáridos y sus derivados, incluyendo los metilésteres con grupos reductores libres). Debido a que el grano de maíz tiene como carbohidrato principal al almidón en el estado de madurez fisiológica, la contribución de los restantes carbohidratos se considera despreciable.

El contenido de almidón se determinó por el método de Dubois *et al.* (1956). El almidón solubilizado completamente con DMSO 90%, se hidrolizó en presencia de ácido sulfúrico concentrado. Los grupos expuestos, en particular furfural, reaccionaron con el fenol dando una coloración anaranjada-amarillenta que se leyó a 490 nm con un espectrofotómetro Spectronic 20D+ (SPECTRONIC Instruments). Para determinar el porcentaje de almidón se multiplicó la ecuación de la recta por el factor de dilución y se dividió por el peso de muestra expresado en mg. Este resultado se multiplicó por el factor de conversión, dando el porcentaje de almidón en 100 mg de muestra.

El contenido de amilosa fue determinado con una variante de la clásica reacción entre la amilosa y el yodo para formar un complejo azul cuantificado por espectrofotometría. Se determinó en muestras solubilizadas con dimetilsulfóxido al 90% como se describe en Knutson (1986) con modificaciones de Robutti *et al.* (2000). Se calculó la proporción amilosa/almidón (AMI/AL) como el cociente entre ambas variables.

3.2.2.2.4. Perfil de ácidos grasos

La extracción de aceite se realizó a partir de 10 gérmenes de maíz utilizando el método de extracción en frío con hexano cromatográfico en mortero y la esterificación por transesterificación directa in situ con catálisis alcalina (Percibaldi *et al.*, 1997). Se utilizó un cromatógrafo gaseoso VARIAN AEROGRAPH - Mod. 2700. Mediante pruebas con patrones de ácidos grasos se identificó cada pico del cromatograma según los tiempos de retención característicos de cada ácido graso.

3.2.2.3. Análisis de datos de calidad nutricional

Las variables de calidad nutricional se sometieron a un análisis descriptivo, determinándose los estadísticos de medida central y de dispersión más relevantes (media, valor mínimo y máximo, desvío estándar y coeficiente de variación), los cuales representaron la variabilidad existente en cada una de las poblaciones en estudio.

Se realizó un análisis de la varianza para todas las variables evaluadas. Se comprobaron los supuestos del Anova en forma individual para cada variable. La independencia de los errores experimentales se aseguró con la asignación aleatoria de los genotipos en las unidades experimentales. El supuesto de distribución normal se analizó utilizando el test de Shapiro-Wilk. En aquellas variables que mostraron diferencias significativas en el Anova se aplicó el Test de DGC que permite crear grupos homogéneos excluyentes preservando las tasas de error de tipo I en el nivel nominal y las tasas de tipo II a nivel de LSD de Fisher (Di Rienzo *et al.*, 2002). El software estadístico utilizado fue Infostat versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

3.2.3. VARIABILIDAD GENÉTICA DEL LOCUS OPACO-2

3.2.3.1. Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de material fresco de hojas jóvenes (colectadas entre 5 y 7 días después de la germinación) de 30 plántulas por población siguiendo el protocolo de Kleinhofs *et al.* (1993).

La germinación de las semillas se llevó a cabo en bandejas de plástico utilizando como sustrato arena estéril (con una proporción 1Kg Arena/ 100ml de agua) bajo condiciones controladas en cámara de germinación a 25°C hasta disponer de plántulas sanas y de tamaño adecuado para realizar la extracción de ADN. Durante la extracción y todo el análisis posterior se mantuvo la individualidad de las plantas.

3.2.3.2. Cuantificación de ADN

La cuantificación y control de la integridad del ADN extraído se realizó mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% y tinción con GelRed®. Se sembró un volumen de muestra de 5ul y 2 ul de *buffer* de siembra. La electroforesis se llevó a cabo en *buffer* TAE 1X (TAE 1X= 100ml TAE 10X/1000ml; stock TAE 10X=400mM Tris, 50mM de ácido acético glacial (NaOAc), 7,7mM EDTA → Se ajustó a pH 8.0 con ácido acético glacial (NaOAc)). Se corrió a un voltaje constante de aproximadamente 150 Volts/cm durante 30 minutos. La visualización del ADN se realizó bajo luz UV utilizando el sistema digital GenSnap®. Se utilizaron patrones de concentración conocidos (Bio-Rad) y se ajustó a una concentración final de ADN de 50ng/ul.

3.2.3.3. Loci evaluados

Para la evaluación de la variabilidad genética del locus Opaco-2 en las poblaciones locales analizadas se utilizaron tres microsatélites públicos asociados: phi112, umc1066 y phi057 (Tabla 3.3). La secuencia de los oligonucleótidos se encuentran publicadas en Maize Genetics and Genomics Database (<http://www.maizegdb.org/>). La lista de los loci evaluados, la ubicación cromosómica (BIN), el motivo y la secuencia de los cebadores flanqueantes se presenta en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Ubicación cromosómica (BIN), posición respecto al locus Opaco-2, motivo y secuencia de los cebadores asociados al locus Opaco-2.

Marcador	Localización cromosómica (BIN)	Posición respecto al locus Opaco-2	Motivo	Secuencia de los cebadores
phi112	7.01	Después de la TATA box y región UTR 5 prima	AG	F: 5'-TGCCCTGCAGGTTACATTGAGT-3'
				R: 5'-AGGAGTACGCTTGGATGCTCTTC-3
umc1066	7.01	Arranca en el Codón de Inicio (Exón 1)	(GCC)4	F: 5'-CTCATCAGTGCCGTCGTCCAT-3'
				R: 5'-CAGTCGCAAGAAACCGTTGCC-3'
phi057	7.01	Exón 6	(GCCAGA) 5	F: 5'-ATGGAGCACGTCATCTCAATGG-3'
				R: 5'-AGCAGCAGCAACGTCTATGACACT-3'

3.2.3.4. Amplificación por PCR

Se amplificó el ADN de 30 individuos por cada población analizada. Cada reacción de amplificación consistió en un volumen final de reacción de 10µl con 50ng/µl de ADN genómico, 2x Quick Taq HS DyeMix (Toyobo, Japón) y 5.0 uM de cada cebador.

Las reacciones de amplificación (PCR) se llevaron a cabo en un termociclador Eppendorf® MastercyclerGradient usando un perfil de desnaturalización inicial a 94°C de 2 minutos, seguido de 40 ciclos compuestos por una desnaturalización a 94°C por 1 minuto, hibridación de los cebadores (*annealing*) a 62°C por 2 minutos y extensión a 72°C por 2 minutos. Finalmente, se terminó con un período de extensión final a 72°C durante 10 minutos.

3.2.3.5. Visualización de los productos de amplificación

La separación de los productos de amplificación se efectuó mediante electroforesis vertical en geles de poliacrilamida utilizando una cuba de electroforesis vertical NA-1114 (NihonEido, Co.) de cuatro geles con placas para 28 muestras por gel de 1 mm de espesor cada uno. La concentración del *stacking gel* fue del 5% y del *running gel* del 16% (29:1, acrilamida: bis-acrilamida). El armado de los geles y preparación de los vidrios se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

La electroforesis de las muestras se llevó a cabo en buffer Tris-Glicina 1X. El tiempo de corrida fue de 24 horas a 60V constantes. La tinción de los geles fue llevada a cabo con GelRed® y visualizada bajo luz UV utilizando el sistema digital GenSnap®. El tamaño de los fragmentos se determinó en forma manual por comparación con el marcador de peso molecular 100pb DNA Ladder Genbiotech. Los productos de diferentes tamaños fueron considerados como diferentes alelos.

3.2.3.6. Análisis de datos moleculares

Se construyó una Matriz Básica de Datos (MBD) computando las frecuencias relativas de alelos por microsatélite observadas para cada población. Las frecuencias alélicas relativas fueron calculadas mediante el método de conteo directo a partir de los genotipos individuales encontrados en cada una de las poblaciones analizadas.

Para un locus y para cada alelo determinado la frecuencia se calculó como:

$$\text{Frecuencia alelo } x = \frac{2N_{xx} + N_{xy}}{2N} = 0 \text{ a } 1$$

Dónde:

N_{xx} = número de individuos homocigotas xx

N_{xy} = número de individuos heterocigotos, donde y puede ser cualquier otro alelo

N = número de muestras

Los parámetros utilizados como estimadores de la variabilidad genética del locus Opaco-2 en las poblaciones evaluadas fueron: el número de alelos totales observados (N_o), el número promedio de alelos (N_a), el número de alelos efectivos (N_e) y la heterocigosis media esperada (H_e), también conocida como el Contenido de Información Polimórfica (PIC).

El número de alelos observados se determinó por conteo directo para cada locus en cada población. Esta medida de diversidad es también conocida como riqueza alélica y está influenciada por el tamaño muestral. Los alelos que sólo se presentaron en una determinada población y ausentes en el resto de las poblaciones se clasificaron como *alelos únicos o privativos* de esa población, mientras que los alelos presentes en $\leq 5\%$ de las poblaciones se clasificaron como *alelos raros*.

El tamaño de la población es una de las variables de la dinámica poblacional que puede influir en la fluctuación de las frecuencias alélicas. El número de individuos que contribuyen en forma similar al pool génico, determinando la tasa de variación de las frecuencias alélicas, se denomina tamaño efectivo de la población. Considerando un sistema de selección neutral de los alelos, el tamaño efectivo poblacional puede también referirse como:

$$N_e = 1 / (\sum p_i^2)$$

Donde p_i es la frecuencia del alelo i -ésimo (Kimura y Crow 1964). También puede interpretarse como el número de alelos que se esperaría encontrar para un locus determinado, en cada población.

La heterocigosidad esperada (H_e) se refiere a la proporción de individuos heterocigotos que deberían estar presentes en una población con apareamiento al azar

según las frecuencias alélicas dadas. La misma fue calculada utilizando el método descrito por Nei (1973):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Donde:

p_i = frecuencia del alelo i -ésimo

k = cantidad de alelos observados

La heterocigocidad esperada también suele referirse como PIC (*Contenido de Información Polimórfica*) (Smith *et al.* 1997; Senior *et al.* 1998) y es un parámetro frecuentemente utilizado para medir la capacidad discriminatoria de los loci o marcadores genéticos. Cuando un locus o marcador es monomórfico, el valor de PIC tenderá a 0, mientras que si es altamente discriminativo tenderá a 1, es decir que presentará muchos alelos en igual frecuencia.

El procesamiento de los datos se realizó con el programa GENEALX 6 (Genetic análisis in Excel) (Peakall y Smouse 2006).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. AMBIENTE DE PRODUCCIÓN

El ciclo de producción se caracterizó por abundantes precipitaciones por encima del promedio histórico para el período del año considerado (1073 mm. vs 897,7 mm), aunque con un patrón de distribución sumamente irregular. Hubo altos registros al momento de la siembra, lo que permitió una germinación uniforme del cultivo. El desarrollo vegetativo transcurrió con valores muy bajos de precipitación. Alrededor del período de floración (09/12/12 al 15/01/13) las precipitaciones fueron muy abundantes, duplicando los valores históricos para dichos períodos. La fase de llenado de grano y madurez fisiológica registró valores menores que los históricos (Figura 3.2).

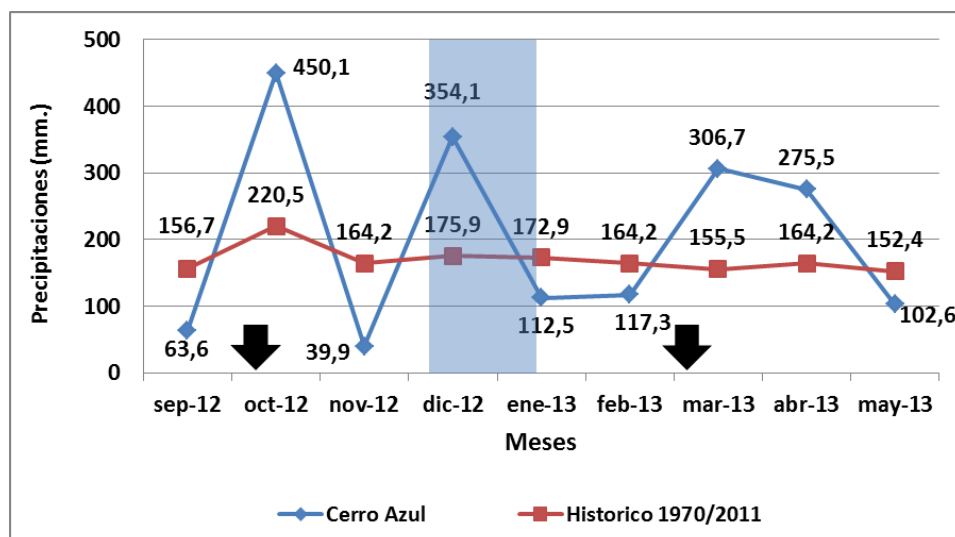


Figura 3.2. Precipitaciones mensuales durante el ciclo de cultivo. Ventana floración de los materiales evaluados (celeste). Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

Las temperaturas medias y máximas registradas durante el período crítico del cultivo (campaña 2012/13) se mantuvieron constantes en el orden de los 24°C y 30°C respectivamente, sin detectarse variaciones importantes con respecto a las campañas 2009/10 y 2010/11 (Figuras 3.3 y 3.4).

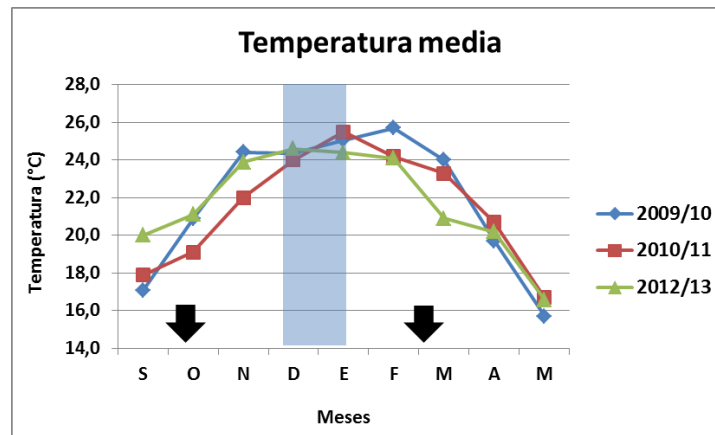


Figura 3.3. Temperatura media registrada en las campañas agrícolas 2009/10, 2010/11 y 2012/13. Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

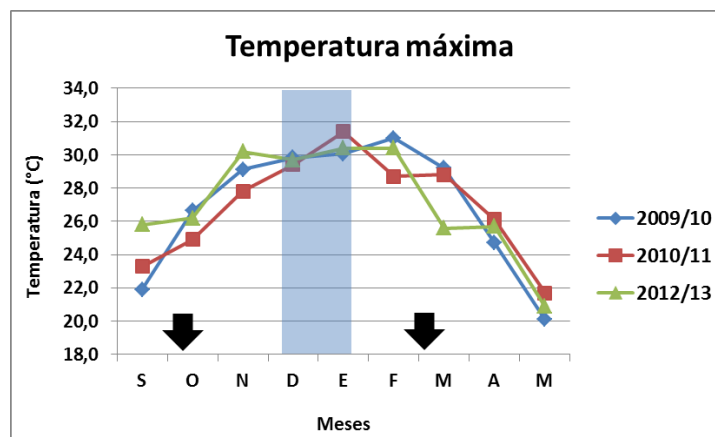


Figura 3.4. Temperatura máxima registrada en las campañas agrícolas 2009/10, 2010/11 y 2012/13. Fecha de siembra y de cosecha de los materiales (flecha).

3.3.2. ANÁLISIS DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES

La calidad nutricional de las poblaciones de la provincia de Misiones se evaluó a través del análisis del contenido y/o calidad de los distintos constituyentes (proteína, almidón, aceite). Los resultados de los mismos se presentan en la Tabla 3.4. Los parámetros de calidad de los diferentes tipos de endosperma se resumen en la Tabla 3.5.

3.3.2.1. Concentración de proteína

Los materiales evaluados mostraron diferencias significativas para este carácter ($p < 0,01$) (Tabla 3.4). La concentración media de proteína de los mismos fue de $11,74 \pm 0,71\%$, con un rango que varió entre 9,9 y 13,4%.

La concentración de proteína en grano de las poblaciones locales mostró valores similares a los obtenidos por los testigos de buen comportamiento agronómico (T18, T19, T20), excepto en dos poblaciones harinosas (P12 y P16) que mostraron los

menores tenores proteicos, comparables con los obtenidos por el testigo QPM. Cinco poblaciones (P5, P8, P9, P14, P15) exhibieron valores por encima del 12%.

Tabla 3.4. Concentración de proteína, aceite, almidón, amilosa, relación amilosa/almidón de las poblaciones locales de maíz y testigos evaluados.

Población	Tipo de endosperma	Floración	Proteína	Aceite	Almidón	Amilosa	Amilosa/Almidón
P1	Harinoso	73,3	11,37 a	5,10 b	71,77 a	22,53 a	31,40 a
P2	Harinoso	74,8	11,63 a	4,67 b	71,47 a	22,63 a	31,70 a
P3	Harinoso	70,6	11,87 a	5,57 a	69,57 b	21,57 a	31,03 a
P5	Dentado	79,0	12,33 a	4,56 b	69,37 b	22,03 a	31,77 a
P6	Dentado	79,8	11,83 a	4,96 b	68,70 b	21,40 a	31,17 a
P7	Dentado	79,8	11,70 a	4,58 b	71,33 a	22,10 a	31,00 a
P8	Semidentado	83,7	12,07 a	4,51 b	71,80 a	22,60 a	31,47 a
P9	Dentado	79,2	12,10 a	4,63 b	70,40 b	21,77 a	30,97 a
P10	Dentado	75,9	11,83 a	4,70 b	70,30 b	22,70 a	32,30 a
P11	Dentado	77,9	11,73 a	4,75 b	70,10 b	22,60 a	32,27 a
P12	Harinoso	81,0	10,50 b	4,72 b	72,93 a	23,27 a	31,93 a
P13	Dentado	79,6	11,87 a	5,31 a	70,77 b	22,77 a	32,17 a
P14	Dentado	76,3	12,20 a	4,87 b	69,97 b	23,03 a	32,97 a
P15	Semidentado	77,1	12,27 a	4,94 b	67,90 b	22,70 a	33,47 a
P16	Harinoso	77,7	10,70 b	4,73 b	70,50 b	22,77 a	32,33 a
P17	Harinoso	61,8	11,90 a	4,98 b	69,57 b	22,10 a	31,80 a
T18	Cristalino	70,0	12,07 a	4,31 b	68,40 b	22,73 a	33,20 a
T19	Semidentado	81,6	12,47 a	4,53 b	68,43 b	22,67 a	33,13 a
T20	Cristalino	70,4	11,47 a	3,86 c	69,20 b	22,87 a	33,03 a
T21†	Semicristalino	70,0	10,83 b	5,53 a	69,53 b	22,47 a	32,33 a
Promedio		76,3	11,74 **	4,79 ***	70,10 *	22,47 ns	32,07 ns
Mínimo‡		58,0	9,9	3,81	66,6	20,0	28,6
Máximo‡		92,0	13,4	6,11	74,8	24,6	35,6
D.E.		6,8	0,71	0,48	1,83	1,09	1,77
C.V.		8,9	6,03	10,12	2,61	4,84	5,52

Los resultados se presentan como porcentaje de materia seca. †Híbrido QPM. ‡ Valores mínimos y máximos obtenidos teniendo en cuenta todos los materiales evaluados y las 3 repeticiones/material. **, *** Significante a $p < 0,05$, $0,01$ y $0,001$. ns: no significativo. Valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes $P < 0,05$.

Al agrupar las poblaciones y testigos según el tipo de endosperma se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), con concentraciones medias de proteína de 10,83% para el testigo Semicristalino (híbrido QPM), 11,33% para los genotipos harinosos, 11,77% para los cristalinos, 11,95% para los dentados y 12,27% para los semidentados (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Comparación de parámetros de calidad según tipo de endosperma.

Tipo de endosperma	Proteína	Aceite	Almidón	Amilosa
Semicristalino	10,83 a	5,53 c	69,53 a	22,47 a
Harinoso	11,33 a	4,96 b	70,97 a	22,48 a
Cristalino	11,77 b	4,09 a	68,80 a	22,80 a
Dentado	11,95 b	4,80 b	70,12 a	22,30 a
Semidentado	12,27 b	4,66 b	69,38 a	22,66 a

Valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes $P < 0,05$.

3.3.2.2. Concentración de aceite

Se observaron diferencias altamente significativas para este carácter (Tabla 3.4). La concentración de aceite varió de 3,81% a 6,11%, con una media de $4,79 \pm 0,48\%$. Los mayores porcentajes de aceite se detectaron en la población P3, P13 y el testigo QPM (T21), en tanto que los valores más bajos se asociaron con el testigo cristalino T20.

En cuanto a su distribución, el 70% de los materiales presentaron tenores medios de aceite en un rango comprendido entre 4,5% a 5% (P2, P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12, P14, P15, P16, P17 y T19), un 20% de los materiales evaluados, presentaron valores por encima del 5% (P1, P3, P13 y el testigo QPM T21), un material (testigo cristalino T18) presentó una concentración media comprendida entre 4-4,5% de aceite y un material (testigo cristalino T20) presentó valores medios inferiores al 4% de aceite en grano.

Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) al agrupar las poblaciones y testigos según tipo de endosperma (Tabla 3.5), registrándose los mayores valores de aceite en el testigo semicristalino (5,53) y los menores en los testigos cristalinos (4,09).

3.3.2.3. Concentración de almidón y amilosa

La concentración de almidón mostró diferencias significativas entre las accesiones evaluadas ($p < 0,05$), con valores medios de $70,1 \pm 1,83\%$ y con un rango de variación de 66,6% a 74,8% (Tabla 3.4). Por su contenido de almidón en grano se destacan las poblaciones P1, P2, P7, P8 y P12.

La concentración de amilosa no mostró diferencias significativas para el germoplasma evaluado en las condiciones ensayadas, mostrando valores medios de $22,47 \pm 1,09\%$ y rangos del 20% al 24,6% (Tabla 3.4).

Si bien no se encontró asociaciones significativas de la concentración de almidón y de amilosa con el tipo de endosperma, se observa una tendencia a disminuir la concentración del primero al aumentar la dureza del endosperma (Tabla 3.5).

3.3.2.4. Perfil de Ácidos Grasos

Se detectaron diferencias altamente significativas para contenido relativo de ácido oleico y linolénico ($p < 0,001$) y significativas para la concentración de linoleico ($p < 0,05$). En tanto que la concentración de ácidos grasos saturados (palmítico y esteárico) no registró diferencias significativas (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Composición de ácidos grasos (%) de poblaciones locales de maíz y testigos evaluados.

Población	PAL	EST	AOL	AL	ALN	AL/ALN	AOL/AL	IN:SAT
1	12,57	1,97	37,23 a	47,33 b	0,90 a	52,93 b	0,77	5,90
2	13,43	2,07	35,70 a	47,97 b	0,83 a	57,63 b	0,77	5,47
3	12,90	1,60	40,43 a	44,20 b	0,87 a	51,20 b	0,90	5,93
5	13,40	1,83	33,87 a	50,10 b	0,80 a	63,03 b	0,70	5,60
6	13,43	2,03	34,43 a	49,27 b	0,80 a	62,43 b	0,70	5,50
7	12,93	2,27	37,63 a	46,40 b	0,77 a	60,53 b	0,83	5,60
8	12,27	1,90	36,23 a	48,87 b	0,73 a	67,47 a	0,73	6,10
9	14,60	2,03	35,03 a	47,57 b	0,77 a	62,43 b	0,73	5,07
10	13,00	1,97	30,80 b	53,50 a	0,73 a	73,60 a	0,57	5,70
11	13,40	2,30	37,27 a	46,37 b	0,67 b	69,60 a	0,80	5,40
12	12,87	2,20	41,43 a	42,67 b	0,83 a	51,07 b	0,97	5,67
13	13,97	2,43	39,73 a	43,10 b	0,77 a	56,57 b	0,93	5,23
14	13,23	2,17	38,43 a	45,33 b	0,83 a	54,43 b	0,83	5,53
15	14,37	1,90	31,47 b	51,53 b	0,70 b	73,63 a	0,60	5,13
16	13,43	2,40	36,77 a	46,47 b	0,90 a	52,03 b	0,80	5,30
17	13,27	1,90	30,53 b	53,37 a	0,90 a	60,00 b	0,60	5,63
T18	12,53	2,07	34,53 a	50,07 b	0,77 a	66,00 a	0,70	5,87
T19	13,53	1,93	35,80 a	48,13 b	0,60 b	82,50 a	0,73	5,50
T20	13,60	1,57	29,93 b	53,97 a	0,87 a	62,20 b	0,57	5,63
T21†	14,43	1,73	34,93 a	48,20 b	0,67 b	72,83 a	0,77	5,17
Promedio	13,36 ns	2,01 ns	35,61 ***	48,22 *	0,79 ***	62,61 ***	0,75 ns	5,55 ns
Mín. ‡	11,6	1,2	25,4	35,8	0,5	46,2	0,4	4,0
Máx. ‡	16,1	4,0	44,9	60,0	1,0	104,8	1,2	6,6
D.E.	0,9	0,56	4,24	4,52	0,11	10,75	0,16	0,5
CV	6,75	27,67	11,91	9,37	13,84	17,16	21,75	9,03

Los resultados se presentan como porcentaje de materia seca. †Híbrido QPM. ‡ Valores mínimos y máximos obtenidos teniendo en cuenta todos los materiales evaluados y las 3 repeticiones/material. *, *** Significante a $p < 0,05$ y $0,001$. ns: no significativo. Valores seguidos por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente a $p < 0,05$. PAL: ácido palmítico; EST: ácido esteárico; AOL: ácido oleico; AL: ácido linoleico; ALN: ácido linolénico; AL/ALN: relación ácido linoleico-linolénico; AOL/AL: relación ácido oleico-linoleico; IN:SAT: relación insaturados-saturados.

La concentración media de ácido palmítico fue de $13,36 \pm 0,9\%$ (rango=11,6%-16,1%) y el de ácido esteárico de $2,01 \pm 0,56\%$ (rango=1,2%-4%). La concentración media de ácido oleico fue de $35,61 \pm 4,24\%$ (rango=25,4%-44,9%). Los menores valores de este carácter se registraron en P10, P15, P17 y T20. En tanto que la concentración de ácido linoleico varió entre 35,8% y 60% con un valor medio de $48,22 \pm 4,52\%$,

destacándose por su contenido P10, P17 y T20. En general, los materiales que presentaron las mayores concentraciones de linoleico (>53%) se corresponden con los materiales con menor concentración de oleico (P10, P17 y T20). La concentración de ácido linolénico varió entre 0,5% y 1% con un valor medio de $0,79 \pm 0,11\%$. Los menores valores se registraron en dos poblaciones (P11 y P15) y los testigos T19 y T21.

La relación entre ácidos grasos saturados e insaturados (IN:SAT) registró valores medios de $5,55 \pm 0,5$, en tanto que la relación AL/ALN y AOL/AL mostraron valores de $62,61 \pm 10,75$ y $0,75 \pm 0,16$ respectivamente.

3.3.2.5. Correlación entre caracteres de calidad nutricional

Las correlación más importante registrada fue inversa ($r=-0,98$) y se dio entre la concentración de ácido oleico y linoleico (Tabla 3.7). La concentración de almidón se asoció positivamente con la del ácido oleico ($r=0,54$) y negativamente con el tenor de proteína ($r=-0,52$) y de ácido linoleico ($r=-0,50$). Al aumentar el tenor de aceite en grano hubo un incremento de la concentración de ácido oleico ($r=0,40$) y una reducción del ácido linoleico ($r=-0,44$). En tanto que el nivel de ácido esteárico se relacionó de forma positiva con la concentración de ácido oleico ($r=0,46$) y de forma negativa con el linoleico ($r=-0,52$).

Tabla 3.7. Matriz de correlación de Pearson y niveles de significancia entre variables de calidad nutricional.

	PRO	ALM	AMI	AMI/AL	ACE	PAL	EST	AOL	AL	ALN
PRO	1									
ALM	-0,52*	1								
AMI	-0,30	0,27	1							
AMI/AL	0,13	-0,52 *	0,68 ***	1						
ACE	-0,17	0,04	-0,30	-0,30	1					
PAL	0,03	-0,38	-0,13	0,19	0,21	1				
EST	-0,19	0,39	0,30	-0,03	0,01	-0	1			
AOL	-0,28	0,54*	0,10	-0,33	0,4*	-0,3	0,46*	1		
AL	0,30	-0,50 *	-0,09	0,30	-0,44*	0,07	-0,52 *	-0,98 ***	1	
ALN	-0,34	0,31	-0,10	-0,33	0,02	-0,3	-0,02	0,07	-0,04	1

PRO: proteína; AMI: amilosa; ALM: almidón; AMI/AL: proporción amilosa/almidón; ACE: aceite; PAL: ácido palmítico; EST: ácido esteárico; AOL: ácido oleico; AL: ácido linoleico; ALN: ácido linolénico; AL/ALN: relación ácido linoleico-linolénico; IN:SAT: relación insaturados-saturados. En negrita se resaltan las correlaciones significativas. *, **, *** = significativo a $P < 0,05$, 0,01, y 0,001, respectivamente; ns = no significativo.

3.3.3. VARIABILIDAD GENÉTICA DEL LOCUS OPACO-2

Los tres marcadores asociados al locus Opaco-2 mostraron polimorfismos en las poblaciones evaluadas. Se detectaron un total de 10 alelos en los tres loci analizados (Tabla 3.8). El locus phi112 amplificó 3 alelos de tamaño diferente: 139, 158 y 164 pb, con frecuencias de 0,05, 0,54 y 0,42 respectivamente. Para umc1066 se identificaron 4 alelos de 137, 148, 154 y 160 pb, con frecuencias de 0,78, 0,03, 0,09 y 0,10 respectivamente. Finalmente, para phi057 se encontraron 3 alelos de 154, 159 y 163 pb,

con frecuencias de 0,41, 0,48 y 0,11 respectivamente (Tabla 3.8). El patrón de bandas obtenido para los tres SSR asociados al locus Opaco-2 se muestra en la Figura 3.5.

No se detectaron en las poblaciones evaluadas alelos únicos y/o raros. El número efectivo de alelos (N_e) fue menor al número promedio de alelos (N_a) en todos los locus estudiados, indicando que existen para dichos locus alelos en baja frecuencia en el germoplasma local (Tabla 3.8).

Tabla 3.8. Número de alelos (totales, promedio y efectivos), peso (en pb), frecuencia y Contenido de Información Polimórfica (PIC) de los 3 ssr asociados al locus Opaco-2 en los materiales evaluados.

Locus	Alelo	Tamaño	Frecuencia	No	N_a	N_e	PIC
phi112	1	139 *	0,05	3	2,58	2,12	0,52
	2	158 **	0,54				
	3	164	0,42				
umc1066	1	137 ***	0,78	4	2,90	1,67	0,35
	2	148	0,03				
	3	154	0,09				
	4	160	0,1				
phi057	1	154	0,41	3	2,68	1,84	0,43
	2	159 *	0,48				
	3	163 **	0,11				

No: Número total de alelos; N_a : Número promedio de alelos; N_e : Número efectivo de alelos; PIC: Contenido de Información Polimórfica o Heterocigicidad esperada. * Alelo presente en la línea QPM CML165, ** Alelo presente en la línea QPM CML161, *** Alelo presente en ambas líneas QPM.

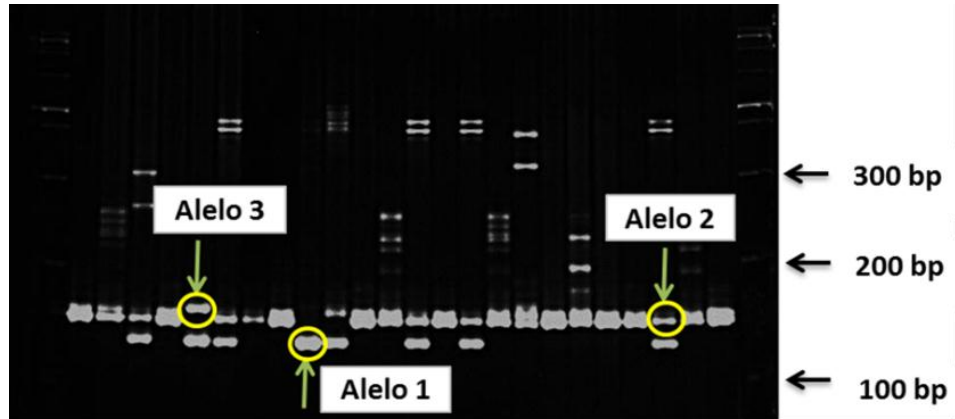
El locus phi112 resultó polimórfico para todas las poblaciones analizadas, amplificando 2 o 3 alelos por población (Figura 3.6 A). El Contenido de Información Polimórfica (PIC) mostró un valor de 0,52 (Tabla 3.8), siendo este el único locus con un $PIC > 0,5$. Los testigos QPM amplificaron una sola banda, aunque de diferente peso molecular, T165 presentó el alelo 1 (139 pb) y T161 el alelo 2 (158 pb). Todas las poblaciones locales y testigos comerciales se caracterizaron por tener una frecuencia intermedia del alelo presente en la línea QPM T161 (alelo 2) y únicamente 11 materiales compartieron, aunque en muy baja frecuencia el alelo 1, presente en la línea T165 (Figura 3.6 A).

El marcador umc1066 con valores de PIC de 0,35 resultó polimórfico para todos los materiales evaluados, excepto en dos poblaciones (P1 y P3) (Tabla 3.8 y Figura 3.6 B). Los dos testigos QPM utilizados (T165 y T161) amplificaron un único producto de 137 pb (Figura 3.6 B). Todas las poblaciones y testigos comerciales analizados presentaron una frecuencia alta de este alelo, destacándose dos poblaciones monomórficas (P1 y P3) y 8 materiales con frecuencias superiores a 0,75 (P2, P7, P9, P11, P12, P14, P16, P17, T19).

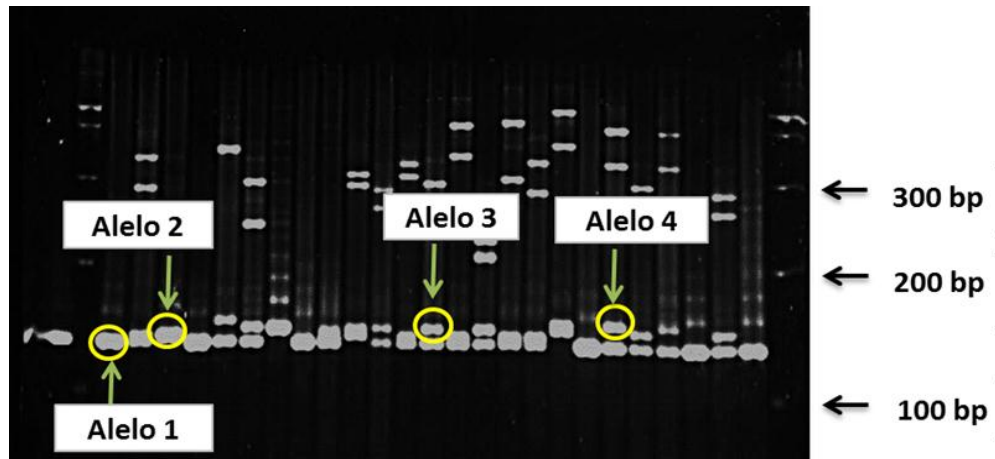
El locus phi057 resultó polimórfico para todos los materiales evaluados excepto el testigo T20 que presentó el alelo 1 únicamente (Figura 3.6 C). Este loci mostró valores de PIC de 0,43 (Tabla 3.8). Los testigos QPM utilizados (T165 y T161) amplificaron una sola banda, aunque de diferente peso molecular, T165 presentó el alelo 2 (159 pb) y T161 el alelo 3 (163 pb). Todos los materiales evaluados, excepto T20 se

caracterizaron por presentar el alelo 2, aunque la frecuencia del mismo fue muy variable, con valores mínimos de 0,07 y máximos de 0,83. El alelo 3, presente en la línea QPM T161 estuvo ausente o en muy baja frecuencia en los materiales analizados (Figura 3.6 C).

A.-



B.-



C.-

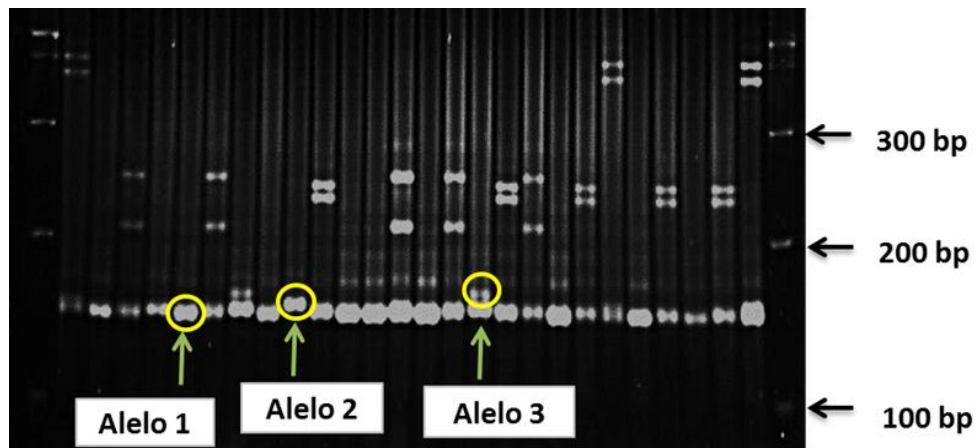
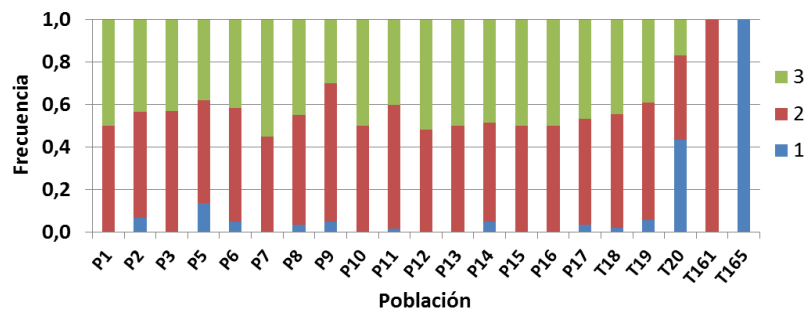
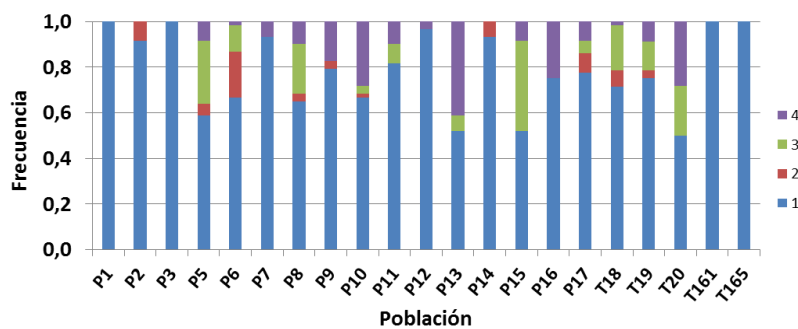


Figura 3.5. Patrón electroforético de los marcadores asociados al locus Opaco-2. A.- Tamaño (pb) de los alelos para el locus phi112 . B.- Separación de los productos de amplificación del locus umc1066. C.- Tamaño (pb) de los alelos del locus phi057 en la población P7.

A.-



B.-



C.-

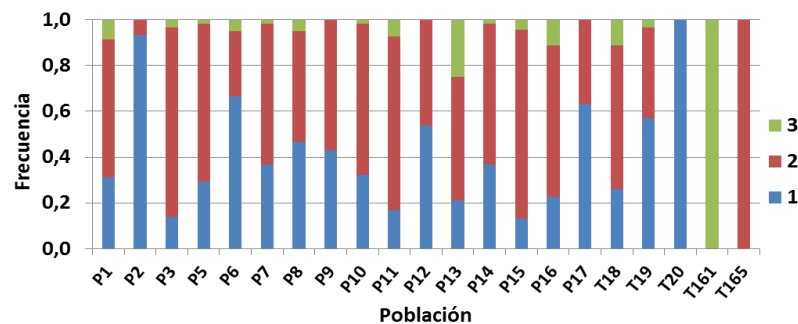


Figura 3.6. Distribución de frecuencias alélicas de los marcadores asociados al locus Opaco-2 en las poblaciones locales de maíz y testigos evaluados. A.- Locus phi112. B.- Locus umc1066. C.- Locus phi057.

3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. AMBIENTE DE PRODUCCIÓN

La composición química del grano de maíz puede variar en el contenido y/o calidad de los distintos constituyentes (proteínas, aceite, almidón), determinando su valor nutricional y propiedades tecnológicas finales. La variabilidad observable en la constitución química del grano depende de múltiples factores, algunos de ellos son imponderables (ej. clima y suelo), mientras que otros (genotipo, manejo del cultivo, manejo postcosecha) pueden ser manipulados para conservar y/o mejorar los niveles de calidad del grano cosechado (Corcuera, 2012).

Los resultados de los parámetros de calidad nutricional evaluados correspondieron a un ambiente y condición de manejo particular. La composición química del grano es influenciada por las condiciones ambientales, siendo el nivel de proteína el componente más sensible a dichos efectos (Mason & D’Croz-Mason, 2002; Cárcova *et al.*, 2003; Corcuera, 2012). La temperatura y la disponibilidad de agua y nitrógeno son los factores con mayor influencia sobre el contenido proteico (Mittelman *et al.*, 2003; Cárcova *et al.*, 2003). Se ha reportado que con temperaturas mayores a 25°C el contenido relativo de proteína aumenta por encima de los valores normales, en tanto que el mismo varía inversamente con la cantidad de lluvias registradas durante el período de floración-inicio de llenado de granos (Cárcova *et al.*, 2003). Por su parte el contenido de almidón y aceite están influenciados principalmente por el genotipo (Mason & D’Croz-Mason, 2002), no encontrándose relación entre el aumento de temperatura durante el llenado efectivo de granos, el nivel de precipitaciones o el rendimiento y la concentración de aceite (Cárcova *et al.*, 2003).

Los valores de temperatura observados durante el período crítico del cultivo se mantuvieron constantes, con valores medios de 24°C y picos máximos del orden de los 30°C (Figura 3.3 y 3.4). Esto pudo repercutir en un aumento del contenido proteico por encima de los valores normales, según lo indicado por Cárcova *et al.* (2003). Sin embargo, se estima que el impacto de dichas temperaturas sobre todos los materiales evaluados fue de igual magnitud al considerar la constancia de las temperaturas en el período considerado. El nivel de precipitaciones impactó de forma diferencial a los materiales evaluados, observándose precipitaciones abundantes a floración en los ciclos cortos y valores menores en los ciclos más largos (Figura 3.2). Sin embargo, no pudo observarse una relación entre el contenido de proteína de los materiales y el largo del ciclo (Tabla 3.4). De esta manera, las diferencias observadas en la calidad nutricional de los materiales evaluados podrían deberse a cuestiones intrínsecas de los mismos y no a haber estado expuestos a diferentes condiciones de temperatura y precipitación durante el período crítico del cultivo.

3.4.2. ANALISIS DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES

Teniendo en cuenta que en la provincia de Misiones el maíz es utilizado tanto en la alimentación humana como animal, las propiedades nutricionales, incluyendo el contenido de proteína y aceites, tienen un valor significativo para el usuario final.

3.4.2.1. Concentración de proteína

En el presente trabajo el contenido de proteína en grano osciló entre 9,9% y 13,4%). Por lo general, este parámetro varía de 8 al 11% del peso del grano entero en variedades comunes de maíz (materiales no mejorados específicamente para esta característica) (FAO, 1993). A nivel mundial los valores reportados para la concentración de proteína en maíz fluctúan, según la fuente consultada, entre 6,1 a 15% (ILSI Argentina, 2006) y entre 6 a 12% (Corn Refiners Association, 2006). En la Argentina al analizar 109 híbridos comerciales cultivados en las provincias de Buenos Aires y Córdoba se registró un valor medio de 9,5% (rango= 6,9% - 11,8%), en tanto que la Asociación Maíz Argentino (MAIZAR) reportó valores de 11,59% (rango=10,35%-12,78%) al evaluar 48 híbridos comerciales de tipo cristalino, dentado y semidentado en el norte y sudeste de la Provincia de Buenos Aires durante la campaña 2004/05 (ILSI Argentina, 2006). Los datos reportados para diferentes híbridos en seis

estados de Brasil entre los años 2004 y 2013 fluctúan entre 7,66% y 14,7%, con un valor medio de 11,04% (*ILSI Crop Composition Database Version 5.0*).

Los valores de proteína obtenidos se encuentran dentro de los márgenes reportados mundialmente a nivel de razas locales (Berardo *et al.*, 2009, Flint García *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2009; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2014). A nivel regional, Robutti *et al.* (2000) reportaron rangos de variación del 8,8 al 11,9% al evaluar 239 accesiones de maíz de la Argentina de diferentes tipos de endosperma. En tanto, Pinto *et al.* (2009) encontraron valores de 10,26 al 12,41% al evaluar 20 razas locales de Brasil. La amplitud de la variabilidad reportada en cada caso está asociada principalmente con el número y diversidad racial analizada, la ubicación geográfica, el ambiente de producción y las condiciones de muestreo (Corcuera, 2012).

Los resultados de la Tabla 3.4 ponen en relieve que, excepto para las poblaciones P12, P16 y el testigo QPM, los restantes materiales evaluados superaron el 11%, valor considerado por la FAO (1993) como valor máximo de proteína observado en variedades comunes de maíz, con resultados comparables a los obtenidos por los testigos de buen comportamiento agronómico (T18, T19 y T20). A su vez, el promedio de este carácter determinado para el conjunto de materiales evaluados superó en 23,6% al valor medio (9,5%) indicado por ILSI (International Life Sciences Institute) para materiales cultivados en la Argentina (Martin de Portela, 2006). En tanto, cuando se compara con el 11,5% publicado por MAIZAR (ILSI Argentina, 2006) y el 11,04% reportado por ILSI para materiales cultivados en Brasil, más del 80% de las poblaciones locales evaluadas aquí presentaron niveles superiores a dichos valores.

Se encontró una asociación entre la concentración de proteína y el tipo de endosperma evaluado, registrándose valores de 10,83% para el testigo semicristalino, 11,33% para los genotipos harinosos, 11,77% para los cristalinos, 11,95% para los dentados y 12,27% para los semidentados. Estos valores, si bien se encuentran dentro del rango de valores reportados por MAIZAR (ILSI Argentina, 2006) para híbridos de tipo Flint (11,13% - 12,37%) y para materiales dentados y semidentados (10,35% - 12,78%), no se corresponde con la tendencia esperada. Por lo general, los endospermas más duros contienen mayor concentración de proteína y menor concentración de almidón (Robutti *et al.*, 2000). En este sentido, Dombrink-Kurtzman y Bietz (1993) mostraron que diferencias en la composición de los cuerpos proteicos se correlacionan con la textura de endosperma, específicamente con el nivel de zeínas, reportando valores tres veces mayores en variedades de endosperma duro que en las de endosperma harinoso. Méndez Montealvo *et al.* (2005), al evaluar 20 variedades e híbridos en México, detectaron mayores concentraciones de proteína en granos de tipo dentado y semidentado que en los cristalinos y semicristalinos. Por su parte Robutti *et al.* (2000), al analizar 239 accesiones de diferentes tipos raciales, no encontraron correlaciones significativas entre concentración de proteína y tipo de endosperma.

3.4.2.2. Concentración de aceite

La concentración media de aceite de los materiales evaluados, incluyendo a los testigos, fue de 4,79%. Dicho valor resultó superior al 4,3% reportado a nivel mundial por Corn Refiners Association (2006) y coincidente con los datos reportados por ILSI que ubican el rango mundial para esta carácter entre 1,36% y 7,83%, entre 2,35% y 6,21% a nivel nacional y entre 2,63% y 6,78% en Brasil (*ILSI Crop Composition Database Version 5.0*). Por su parte, MAIZAR señala valores de 3,88% a 6,48% para

concentración media de aceite al evaluar 48 híbridos comerciales muestreados en zona maicera núcleo (norte de Buenos Aires y sur de Santa Fe) y sudeste de la provincia de Buenos Aires durante la campaña 2004/05 (ILSI Argentina, 2006).

La concentración de aceite de los materiales evaluados osciló entre 3,8% y 6,1%. Este rango se encuentra dentro de los reportados para razas locales. Berardo *et al.* (2009), al evaluar 547 poblaciones provenientes de Italia y 449 accesiones foráneas (China, Japón, USA, Canadá, México, Chile, Turquía, Rusia y países pertenecientes a la Unión Europea), reportaron valores de 2,27% a 7,74%. En tanto que Flint García *et al.* (2009), al evaluar 17 poblaciones locales de amplia diversidad genética provenientes del NCRPIS (North Central Regional Plant Introduction Station) y de la Universidad M. Goodman del Estado de Carolina del Norte, encontraron rangos más estrechos (3,47% a 5,11%), al igual que Ignjatovic-Micic *et al.* (2014) al evaluar 25 razas locales en Serbia (3,75% a 5,40%) y Pinto *et al.* (2009) al analizar 20 razas locales en Brasil (3,63% y 4,98%).

El aceite de maíz tiene 2,25 veces más contenido calórico por unidad de peso que el almidón y un mejor balance nutricional, por lo que incrementos en la concentración del mismo revisten interés en la alimentación de aves, ganado lechero, cerdos y ovejas (Saleh *et al.*, 1997; Heiniger y Dunphy, 2001, Singh *et al.*, 2014). Además, al evitar o reducir la suplementación con aceite en la ración de esos animales, reduce sustancialmente los costos de alimentación (Corcuera, 2012). El aumento de concentración de aceite es importante también para la alimentación humana debido a la calidad del aceite de esta especie (Paliwal, 2001) y al concomitante incremento en la concentración de proteínas y la calidad de las mismas relacionadas con el aumento del tamaño del germen (Singh *et al.*, 2014). Si bien los valores reportados en el presente trabajo se encuentran por debajo del 6% recomendado para ser considerado como maíz de alto aceite (HOC), los tenores de aceite (5,3-5,6%) detectados en los materiales P3, P13 y el testigo QPM sugieren una cierta ventaja comparativa en la alimentación humana y animal, pudiendo ser de gran utilidad en futuros programas de mejoramiento.

Se encontró una asociación entre concentración de aceite y tipo de endosperma evaluado (Tabla 3.5), registrándose los mayores valores de aceite en el testigo semicristalino (5,53%). Este tipo de grano es más redondo y pequeño que los granos de los materiales dentados, semidentados y flint evaluados. Teniendo en cuenta que aproximadamente el 85% de los lípidos del grano se encuentran en el germen y que la relación germen-endospermo es una función del tamaño del grano, en general, los granos más pequeños tienden a presentar mayores contenidos de aceite que los más grandes (Robutti, 1995).

3.4.2.3. Concentración de almidón y amilosa

La concentración media de almidón fue de 70,1%, con un rango de variación de 66,6% al 74,8%, coincidente con los reportados por Corn Refiners Association (2006) que ubica el rango mundial para este carácter entre 61% y 78%, destacándose por su contenido las poblaciones P1, P2, P7, P8 y P12.

En general, las poblaciones locales presentan menor concentración de almidón y mayor concentración de proteínas con respecto a los materiales mejorados (Singh *et al.*, 2001, Méndez Montealvo *et al.*, 2005). Los valores obtenidos son similares a los hallados por Robutti *et al.* (2000) al evaluar 239 accesiones de Argentina de diferentes

tipo de endosperma (rango=66,2% - 75,6%) y resultan superiores a los reportados por otros autores. Berardo *et al.* (2009), al evaluar 996 accesiones de diferentes orígenes, reportan rangos de 61,2% a 70,1%, en tanto que Singh *et al.* (2001) encuentran valores de 65,9% a 69,1% al analizar 49 accesiones del GEM (Germplasm Enhancement of Maize). Por su parte, Pinto *et al.* (2009) reportaron valores de 53,1% a 67,1% para 20 razas locales provenientes de Brasil, en tanto que Chander *et al.* (2008) encontraron valores mínimos de 57,96% y máximos de 70,26% al evaluar 87 líneas endogámicas selectas a partir de los principales grupos heteróticos del germoplasma de maíz de China.

La concentración de amilosa total (22,47%) de las poblaciones analizadas fue menor a la reportada por Robutti *et al.* (2000) al evaluar 239 accesiones de Argentina de diferentes tipos de endosperma (27,2%) y a la hallada por Pinto *et al.* (2009) en 20 variedades locales de maíz de Brasil (25,6%). Estas diferencias estarían asociadas con el ambiente de evaluación en el primer caso (ambiente templado vs subtropical) y con la diversidad racial analizada en el segundo caso. Pinto *et al.*, (2009) evaluaron variedades locales dentadas y semidentadas, sin incluir materiales harinosos como los del presente trabajo. Teniendo en cuenta que la concentración de amilosa aumenta en endospermas más duros (Dombrink-Kurtzman y Knutson, 1997), esto explicaría los valores más elevados obtenidos por dicho autor. Por otra parte, Seetharaman *et al.* (2001), al evaluar un grupo selecto de 35 *landraces* de diferentes tipos raciales de Argentina, reportaron valores medios de 19,33%, con mínimo de 16,1% (Raza Dentado amarillo procedente de Misiones) y máximo de 23,5% (Raza Canario Formosa, tipo semiflint, origen Formosa). Por su parte, Singh Sandhu y Singh (2007) encontraron diferencias significativas en la concentración de amilosa en nueve variedades mejoradas de la India, con valores de 16,9% a 21,3%.

Si bien no se encontraron asociaciones significativas de las concentraciones de almidón y de amilosa con el tipo de endosperma, se observó una tendencia a disminuir la concentración del primero al aumentar la dureza del endosperma (Tabla 21). En este sentido, Dombrink-Kurtzman y Knutson (1997) indican que la mayor concentración de almidón presente en endospermas harinosos con respecto a los más duros es consistente con el hecho de que estos últimos presentan más proteínas solubles en alcohol, principalmente zeínas. A su vez, los gránulos de almidón de endospermas duros son más compactos debido a que contienen mayor contenido de amilosa, posiblemente de mayor peso molecular. Robutti *et al.* (2000) observaron que las mayores concentraciones de almidón estuvieron asociados con la raza semiflint y las menores, con la dentada, contrariamente a lo esperado. Por otra parte, la tendencia hacia mayores concentraciones de amilosa al aumentar la dureza del endosperma fue más evidente entre las razas harinosas, dentadas y semiflint, no así entre las razas más duras, las que mostraron contenidos intermedios en el trabajo de Robutti *et al.* (2000).

3.4.2.4. Perfil de ácidos grasos

Los resultados obtenidos indican que existe variación para la composición de ácidos grasos en el germoplasma evaluado, consistentes con los reportados por Jellum, 1970; Dunlap *et al.*, 1995a, b; Egesel *et al.*, 2011. Las concentraciones media de ácido palmítico (13,4%) y esteárico (2,01%) resultaron superiores a las reportadas por ILSI a nivel mundial (12,5% y 1,9% respectivamente) y a nivel nacional (12,6% y 1,83% respectivamente), aunque con valores más próximos a los indicados para Brasil para el contenido de ácido palmítico (13,34%). En cuanto a la concentración de ácidos grasos

insaturados, los materiales evaluados presentaron una mayor concentración media de ácido oleico (35,6%) y una menor concentración de ácido linoleico (48,2%) y linolénico (0,79%) con respecto a los reportados por ILSI a nivel mundial (26,5%, 56,7% y 1,38% respectivamente) y a nivel nacional (26,1%, 57,2% y 1,38% respectivamente), aunque más similares a los reportados para Brasil (29,5%, 53% y 1,18% respectivamente) (*ILSI Crop Composition Database Version 5.0*). Estas diferencias estarían relacionadas principalmente con los factores ambientales preponderantes en cada ambiente analizado. Dunlap *et al.* (1995a) y Eyherabide *et al.* (2005) indican que aceites provenientes de regiones más cálidas presentan una mayor proporción de ácidos grasos saturados que aceites procedentes de climas más fríos, aunque los factores genéticos mantienen un rol preponderante en la determinación del perfil de ácidos grasos. Resultados similares son reportados por Egesel *et al.* (2011), quienes además de los efectos genéticos y ambientales detallados por Dunlap *et al.* (1995a), reportaron la influencia de la componente de interacción GxA. Por otra parte, se ha indicado en la literatura que existen efectos de la temperatura durante la fase de llenado del grano que pueden afectar la relación oleico-linoleico (Eyherabide *et al.*, 2005).

Entre los atributos relacionados con la calidad para consumo humano resultan relevantes la disminución de la concentración de ácidos grasos saturados (<6%), el aumento de la concentración de ácido oleico y el aumento de saturados totales. Esto proporciona aceite naturalmente endurecido para la fabricación de margarina y, de esta manera, disminuye el contenido de ácidos trans producidos durante el procesamiento industrial (Eyherabide *et al.*, 2005; Pollak & Scott, 2005; Duvick *et al.*, 2006).

El perfil de ácidos grasos de los materiales evaluados indica una relación adecuada entre grasas insaturadas y saturadas (media=5,55), contrariamente a lo observado en la leche y carne vacuna (0,11-0,15) en las que el perfil es considerado sumamente perjudicial para la salud humana (Corcuera, 2012). Esta relación se corresponde con lo reportado por Olivera Carrión (2006) para maíz (IN/SAT=5,25). La alta proporción de ácidos grasos mono y poli-insaturados en el maíz tiene efectos importantes sobre la salud ya que su consumo está asociado a disminuciones de las concentraciones séricas de colesterol y de la presión sanguínea (Yu *et al.*, 1995; Kris-Etherton, 1999; Frenoux *et al.*, 2001).

Sin embargo, para un correcto funcionamiento del organismo, es necesario que la proporción de ácido linoleico ($\Omega 6$) y linolénico ($\Omega 3$) sea la adecuada (rango 4:1). En el aceite de maíz y otros aceites vegetales esta relación presenta un claro desequilibrio (10:1 o más) (Olivera Carrión, 2006). Los valores encontrados ($\Omega 6/\Omega 3=62,6$) responden a esta tendencia, con resultados similares a los reportados por Corcuera (2012) para 13 híbridos cultivados en las provincias de Buenos Aires y Santa Fe ($\Omega 6/\Omega 3=63,6$), aunque de mayor magnitud que los indicados por la Asociación Argentina de Grasas y Aceites (ASAGA) a nivel país ($\Omega 6/\Omega 3=46:1$) (Olivera Carrión, 2006). Teniendo en cuenta que estos ácidos grasos no son fabricados por el cuerpo humano, se consideran esenciales. Debido al importante papel que desempeñan en diversas rutas metabólicas a nivel de membrana celular y en el cerebro, a sus propiedades antiartríticas, antiescleróticas, antiinflamatorias e hipercolesterolímicas (Olivera Carrión, 2006) resulta esencial incorporarlos a través de la dieta en las proporciones adecuadas. Una relación desequilibrada en el aceite y la ingesta excesiva de ácido linoleico como el que se observa en comunidades que presentan al maíz como elemento esencial de su dieta pueden promover la patogénesis de enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades autoinmunes e inflamatorias (Geay *et al.*, 2001; Simopoulos, 2002; 2006;

Olivera Carrión, 2006; Corcuera, 2012). Con relación a la nutrición animal, la utilización de maíz en altas proporciones en la alimentación de bovinos produciría carne con un perfil menos deseable de ácidos grasos debido a su mayor proporción de ácido linoleico y oleico y menor concentración de linolénico con respecto a las pasturas tradicionales (Depetris y Santini, 2006). Aunque dependiendo del nivel de inclusión en la dieta y al tiempo de suministro previo a la faena, los efectos no serían tan marcados, generando carnes aceptables a nivel nutricional y sensorial. El empleo de maíz en la dieta de aves ponedoras provoca un aumento del tamaño de los huevos y una mayor concentración de Omega-6 y Omega-3 como consecuencia del incremento en la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados (Moraes y Vartorelli, 2006).

Teniendo en cuenta el potencial observado en el germoplasma local para los caracteres de calidad, sería posible obtener ganancias adicionales a través del mejoramiento para dichos caracteres. Considerando además, los antecedentes favorables respecto al progreso obtenible por selección para perfil de ácidos grasos (Eyherabide *et al.*, 2005; Pollak y Scott, 2005) podría ser posible desarrollar materiales con un patrón adecuado de ácidos grasos para diferentes usos.

3.4.2.5. Correlación entre caracteres de calidad nutricional

Las concentraciones de aceite, proteína y almidón son características que pueden estar correlacionadas. Al analizar los resultados se evidenció una asociación negativa, altamente significativa, entre la concentración de proteína y almidón del grano, coincidente con lo reportado por Dorsey-Redding *et al.* (1991), Séne *et al.* (2001), Lee *et al.* (2005), Clark *et al.* (2006), Dudley (2007), Chander *et al.* (2008), Pinto *et al.* (2009), Guo *et al.* (2013) e Ignjatovic-Micic *et al.* (2014). En cambio, no se encontró correlación significativa del tenor de aceite con las concentraciones de proteína y de almidón. El grado de asociación entre estas características reportado en la literatura muestra una gran variación entre autores, observándose correlaciones positivas, negativas e inclusive no significativas (Dorsey-Redding *et al.*, 1991; Séne *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2005; Clark *et al.*, 2006; Dudley *et al.*, 2007; Coutiño Estrada *et al.*, 2008; Chander *et al.*, 2008; Saleem *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2009; Bilgin *et al.*, 2010; Corcuera, 2012; Guo *et al.*, 2013; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2014). Alexander y Lambert (1968) concluyeron que la capacidad de la planta de producir carbohidratos y sintetizar aceite son fisiológicamente independientes en el intervalo de 4 a 7 % de aceite, lo que podría explicar las diferencias en los patrones de correlación encontrados por diversos autores para estos caracteres, teniendo en cuenta la diversidad de germoplasma evaluado. La relación negativa entre aceite y almidón estaría asociada a cambios en la proporción embrión-endospermo en materiales de alto aceite (HOC) y a la localización diferencial de ambos caracteres en dichos compartimientos del grano.

Las variaciones en el tenor de aceite se tradujeron en cambios en la composición de ácidos grasos, particularmente en la cantidad relativa de ácido oleico (correlación positiva) y de ácido linoleico (correlación negativa). Otros estudios utilizando distintos fondos genéticos también reportaron estas asociaciones (Misevic y Alexander, 1989; Alrefai *et al.*, 1995; Dunlap *et al.*, 1995a; Wassom *et al.*, 2008). La asociación positiva aceite-oleico y negativa aceite-linoleico sugiere una mayor acumulación de oleico en líneas de alto-aceite, probablemente asociada a una capacidad limitada de conversión oleico a linoleico por parte de las ácido graso desaturadas, que son las enzimas encargadas de este proceso (Wassom *et al.*, 2008). La presencia de una asociación

positiva entre contenido de aceite y ácido oleico permitiría el mejoramiento simultáneo en cantidad y calidad del aceite en estas poblaciones.

Las correlaciones más importantes a nivel de ácidos grasos fueron encontradas entre los ácidos de 18 carbonos, lo que puede ser atribuido a que éstos comparten una ruta biosintética común de insaturación en el orden: ácido esteárico (18:0), oleico (18:1), linoleico (18:2) y linolénico (18:3) (Jellum, 1970; Wassom *et al.*, 2008; Alezones *et al.*, 2010, Corcuera *et al.*, 2012). A su vez, Alrefai *et al.* (1995) encontraron los mismos QTL (12 locis agrupados en 8 regiones) asociados a las concentraciones de ácido oleico y linoleico al analizar una población segregante (alto aceite x bajo aceite), lo que explicaría la fuerte correlación existente entre ambos. El control genético asociado a los ácidos esteárico y linolénico presenta mayor complejidad (Alrefai *et al.*, 1995). La fuerte asociación negativa entre los ácidos grasos insaturados y la concentración de palmítico y esteárico podría ser explicado por el predominio de estos componentes sobre la composición de ácidos grasos totales y al proceso de elongación de la cadena en los plastidios y el cese del alargamiento adicional después de la exportación al citoplasma, donde se produce el montaje de triglicéridos (Wassom *et al.*, 2008).

3.4.3. VARIABILIDAD GENÉTICA DEL LOCUS OPACO-2

El pre-mejoramiento se ha centrado en la disección de la base genética de la variación natural relacionada con caracteres de interés tales como rendimiento, contenido de lípidos, proteínas y almidón, y calidad proteica. Grandes esfuerzos se han dedicado al screening de grandes colecciones de recursos genéticos con el fin de identificar regiones cromosómicas, genes, polimorfismos o haplotipos involucrados en la variación de dichas características (Manicacci *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta que los aminoácidos más limitantes en la dieta de no rumiantes y humanos son la lisina, seguida del triptófano y la treonina, el aumento de los mismos tiene una gran relevancia para comunidades con fuerte dependencia de este cereal como alimento básico, así como para la nutrición de animales monogástricos (Vivek *et al.*, 2008, Díaz Coronel *et al.*, 2009). En su gran mayoría los estudios relacionados con el incremento de lisina y triptófano se han basado en comprender los mecanismos genéticos y fisiológicos asociados a la mutación opaco-2 y a la introgresión de dicha mutación en diversos fondos genéticos. Sin embargo existe escasa información acerca del papel que desempeña la diversidad alélica a nivel del locus sobre la variación fenotípica de dichos caracteres.

El sistema de separación empleado en este trabajo permitió distinguir polimorfismos en las poblaciones evaluadas para los tres marcadores asociados al locus Opaco-2. El contenido de información polimórfica brinda información sobre los loci SSR utilizados y su potencial para detectar diferencias entre los materiales evaluados, basados en su relación genética. Los marcadores umc1066 y phi057, con valores de 0,35 y 0,43 respectivamente, se consideraron moderadamente informativos ($0,25 < PIC < 0,5$) para las poblaciones analizadas según la clasificación propuesta por Botstein *et al.* (1980). En cambio, phi112, con un valor de 0,52, fue clasificado como muy informativo ($PIC > 0,5$). En este sentido, Senior *et al.* (1998) y Xia *et al.* (2000) reportaron valores de PIC de 0,45 y 0,83 para phi112; Bantte y Prasanna (2003), Morales *et al.* (2010), Ruiz Ronquillo (2011) y Nikhou *et al.* (2013) encontraron valores de 0,08, 0,69, 0,59 y 0,78 respectivamente para el locus phi057; y Bhatnagar (2004),

Enoki *et al.* (2002), Bonámico *et al.* (2004) y Nguyen *et al.* (2012) y Nagy *et al.* (2009) presentaron valores de 0,06, 0,49, 0,53 y 0,56 y 0,80 para umc1066. Las diferencias entre estos trabajos pueden ser atribuidos principalmente a diferencias en el tamaño de la muestra y la base genética de la población analizada en cada estudio (Morales *et al.*, 2010). Los valores extremadamente bajos informados por Bantte y Prasanna (2003) y Bhatnagar (2004) estarían asociados a la naturaleza del germoplasma evaluado, teniendo en cuenta que en ambos casos se utilizaron líneas QPM que han sufrido una gran presión de selección para esta región genómica. Por su parte, los valores altos detectados por Xia *et al.* (2000) para el locus phi112 se explican por la gran diversidad del germoplasma evaluado (57 líneas y 7 poblaciones provenientes del CIMMYT) y al gran tamaño muestral (48 individuos por población).

El cebador phi112 amplificó un total de 3 alelos con peso molecular de 139, 158 y 164 pb. Estos rangos (pb) coinciden con los obtenidos por otros autores. Senior *et al.* (1998) revelaron para este locus la presencia de 5 alelos con fragmentos que varían de 136 a 160 pb en 94 líneas provenientes de la colección de germoplasma de USA. En tanto que Xia *et al.* (2000) informaron la presencia de 13 bandas de diferente peso molecular en un rango de 136 a 175 pb en 57 líneas y 7 poblaciones provenientes del CIMMYT. Las líneas QPM utilizadas en el presente trabajo, T165 y T161, amplificaron bandas de 139 y 158 pb respectivamente (Tabla 3.8 y 3.9). Numerosos estudios de selección asistida por marcadores (MAS) reportaron la presencia de polimorfismo de tipo dominante (presencia/ausencia) entre líneas normales y QPM (Moura Duarte, 2004; Babu *et al.*, 2005, Danson *et al.*, 2006; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2009; Dang, 2010), donde la ausencia de un fragmento aproximado de 150-160 pb en los productos de amplificación de las líneas QPM las diferencia claramente de las variantes normales. Sin embargo y tal como ocurre en el presente trabajo, existen evidencias que indican que en distintas genealogías del germoplasma de maíz del CIMMYT, hay líneas o2o2 que presentan bandas para este marcador (Vivek *et al.*, 2008). Esto es sustentado también por lo obtenido por Yang *et al.* (2004) quienes encontraron al menos 4 alelos para este locus, un alelo dominante (174 pb aproximadamente) y 3 recesivos (un alelo nulo y dos alelos recesivos con deleciones de 1 y 15 pb con respecto al alelo dominante). La falta de productos de amplificación en ciertas líneas QPM podría estar asociada con mutaciones en esta región que interfieren con la amplificación de los microsatélites (Yang *et al.*, 2004).

Tabla 3.9. Rangos alélicos reportados para los marcadores SSR asociados al locus Opaco-2 en diferentes fuentes de germoplasma.

	phi112		umc1066		phi057	
	Normal	QPM	Normal	QPM	Normal	QPM
Moura Duarte, 2004	165	alelo nulo	138, 150 y 156	138	150, 156 y 165	165
Yang <i>et al.</i> , 2004	174	alelo nulo, 159 y 173	160-170	150	178	180 y 184
Babu <i>et al.</i> , 2005	150	alelo nulo	160-170	150	160	170
Danson <i>et al.</i> , 2006	136 y 160	alelo nulo	134	134	159	165
Ignatovic-Micic <i>et al.</i> , 2009	150-160	alelo nulo	banda mayor	150	banda menor	170
Presente trabajo *	139, 158, 164		137, 148, 154, 160		154, 159, 163	

* Alelos encontrados en los materiales evaluados (16 poblaciones locales de maíz, 3 testigos comerciales y 2 líneas QPM). En negrita se resaltan las bandas obtenidas por los testigos QPM.

El marcador phi057 reveló la presencia de 3 alelos de 154, 159 y 163 pb en las poblaciones evaluadas. Las líneas QPM utilizadas en el presente trabajo, T165 y T161,

amplificaron bandas de 159 y 163 pb, respectivamente. Estos resultados se corresponden con los reportados por Dang (2010) que encontró productos de 155 pb para el alelo O2 y fragmentos entre 160-170 pb para el alelo o2. En tanto que Yang *et al.* (2004) detectaron 3 alelos de mayor peso molecular (entre 178 y 184 pb), un alelo O2 de 178 pb y dos alelos o2 de 180 y 184 pb.

Para el locus umc1066 se encontraron 4 alelos de 137, 148, 154 y 160 pb. En diferentes fuentes de germoplasma se han informado la presencia de 3 alelos (Bhatnagar, 2004; Bonámico *et al.*, 2004; Vaz Patto *et al.*, 2008), 4 alelos (Nguyen *et al.*, 2012) y 5 alelos (Enoki *et al.*, 2002; Nagy *et al.*, 2009) que variaban entre 138 y 158 pb. Estos datos coinciden, en líneas generales, con los aquí presentados. Los testigos QPM utilizados (T161 y T165) resultaron monomórficos para este marcador, amplificando un producto de 137 pb (Tabla 3.8 y 3.9). Diversos autores reportan bandas de 150 pb en materiales QPM y fragmentos mayores (entre 160 y 170) para los no QPM (Yang *et al.*, 2004; Babu *et al.*, 2005; Ignjatovic-Micic *et al.*, 2009; Kostadinovic *et al.*, 2014). Sin embargo, en ciertos casos la utilización de los marcadores umc1066 y phi057 no ha permitido la diferenciación de linajes normales y QPM (Moura Duarte, 2004; Danson *et al.*, 2006) (Tabla 3.8 y 3.9). La secuenciación de alelos amplificados por el cebador umc1066 en dos linajes normales y una línea QPM revela diferencias en el número de repeticiones del microsatélite GCCAGA. La detección del mismo alelo (pb) en líneas normales y QPM sugiere que la delección observada en estos linajes no afecta la actividad del gen (Moura Duarte, 2004).

El análisis de los marcadores SSRs asociados al locus Opaco 2 evidenció que dentro las poblaciones locales evaluadas existían genotipos que presentaban el mismo patrón de amplificación que las líneas QPM utilizadas como testigos. Sin embargo al no existir información certera acerca del origen de los materiales locales y/o su relación con los testigos QPM utilizados, no es posible afirmar con certeza que dichos alelos presentes en el germoplasma local corresponderían al alelo recesivo o2. Para ello, es necesaria la realización de estudios adicionales de heredabilidad y mapeo que permitan medir el grado de correlación entre materiales con ciertos patrones alélicos y su contenido de lisina y triptófano a nivel bioquímico.

El análisis de diversidad genética a nivel de los locus phi112, umc1066 y phi057 en poblaciones locales de maíz de la provincia, representativas de diferentes formas raciales y tipos de endosperma permitió poner en evidencia la existencia de variabilidad alélica asociada al locus Opaco-2 en el germoplasma local. La caracterización de dicha variabilidad permitirá sentar las bases para estudios más profundos como el diseño de estrategias de mapeo y desarrollo de marcadores dirigidos a regiones de interés polimórficas. Por otra parte, la secuenciación del gen en poblaciones locales del NEA permitirá establecer si las variantes alélicas detectadas en el presente trabajo se corresponden con lo reportado en la literatura o si son variantes nuevas.

3.5. CONCLUSIONES

Considerando los resultados obtenidos en este capítulo y discutidos en la sección precedente se puede concluir que:

Las poblaciones locales evaluadas mostraron diferencias significativas para concentración de proteína, aceite, almidón y perfil de ácidos grasos (ácido oleico, linoleico y linolénico), evidenciándose materiales con un desempeño superior o igual a los testigos comerciales utilizados. El análisis de diversidad genética a nivel de los locus

phi112, umc1066 y phi057 puso en evidencia la existencia de variabilidad alélica a nivel del locus Opaco-2 en el germoplasma local.

El potencial observado en el germoplasma nativo para los caracteres de calidad evaluados sugiere cierta ventaja comparativa en la alimentación humana y animal, pudiendo ser de gran utilidad en futuros programas de mejoramiento. Teniendo en cuenta que no existe información previa para caracteres de calidad nutricional en el germoplasma local, ni trabajos previos de selección para dichos caracteres, los resultados obtenidos proveen información valiosa para su utilización futura en programas de mejoramiento centrados en la mejora de estos caracteres. Sin embargo al tratarse de resultados obtenidos en un ambiente y condición de manejo particular, sería conveniente extender la evaluación a nuevos ambientes y condiciones de manejo. Esto permitirá aumentar la eficiencia de selección de las poblaciones, identificar materiales con adaptación a nichos específicos o a zonas más amplias y generar información para el ajuste y validación de protocolos de producción que permitan expresar además del potencial agronómico una mayor calidad definida en función de la demanda.

CAPITULO 4

CALIFICACIÓN DE LOS MATERIALES EN BASE A CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS Y DE CALIDAD NUTRICIONAL

4.1. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays*, L.) presenta elevada variabilidad genética, contenida en sus numerosas razas locales. La provincia de Misiones es el segundo centro de variabilidad genética del norte argentino con al menos 14 razas nativas de maíz identificadas (Cámara Hernández & Miente Alzogaray, 2003; Melchiorre *et al.*, 2006; Bracco *et al.*, 2012, 2013; Cámara Hernández *et al.*, 2012). Las mismas han sido mantenidas y mejoradas mediante prácticas agrícolas tradicionales por comunidades de la etnia Guaraní y pequeños agricultores de subsistencia. Presentan una gran adaptación al ambiente natural y antropológico en el que se desarrollaron (Esquinas Alcazar, 1987; Maxted *et al.*, 1997), su valor potencial reside en genes de resistencia a enfermedades y plagas, calidad nutritiva y adaptación a condiciones ambientales cambiantes (Ruiz de Galarreta Gómez, 1993; Araujo y Nass, 2002). Representan una fuente de características importantes para la adaptación local, la estabilidad económica y la sostenibilidad del agricultor (Mwololo, 2010).

Actualmente, el corrimiento de la frontera agrícola, la sustitución por cultivares comerciales más productivos y la pérdida de costumbres y tradiciones asociadas a su uso representan una seria amenaza para las variedades nativas de la región (Bravo, 2004; Cámara Hernández y Arancibia de Cabezas, 2007, Bracco *et al.*, 2012, 2013). De esta manera a menos que se realicen acciones tendientes a la defensa y recuperación del germoplasma autóctono, estas reservas genéticas se irán erosionando con el paso del tiempo.

El desarrollo de estrategias eficientes de conservación y utilización de los recursos fitogenéticos requiere de líneas de investigación que aseguren los conocimientos necesarios para el mantenimiento de la variabilidad existente en las poblaciones naturales (Pezoa, 2001; Seguel Benítez, 2001). Las tareas de caracterización y evaluación comprenden aspectos morfológicos, agronómicos, bioquímicos y moleculares, y varían según la especie, el tipo de germoplasma y la finalidad de la investigación (Mohammadi y Prassanna, 2003; Clausen *et al.*, 2008; Peñaloza *et al.*, 2010). La evaluación simultánea de los mismos permite una medición más precisa de las diferencias entre poblaciones, así como una evaluación rápida de su potencial para el mejoramiento. Sin embargo, la descripción de múltiples caracteres puede llevar a problemas en el análisis e interpretación de los resultados (Brandolini y Brandolini, 2001).

En este sentido, las técnicas multivariadas son herramientas muy útiles para caracterizar germoplasma ya que permiten describir y/o agrupar un conjunto de entradas teniendo en cuenta varios caracteres en forma simultánea, proporcionando un resumen sintético de las variables más relevantes y estableciendo las relaciones existentes entre las mismas. De esta manera las poblaciones evaluadas pueden ser fácilmente utilizadas por los fitomejoradores (Bramardi, 2000; Ruiz de Galarreta y Alvarez, 2001; Rojas, 2003). Las técnicas multivariadas más utilizadas para la caracterización de poblaciones locales de maíz son el Análisis de Componentes Principales (ACP), el Análisis de Coordenadas Principales (ACooP) y el Análisis de Clúster (Hidalgo, 2003; Mohammadi y Prassanna, 2003; Defacio, 2009). Cuando se trabajan con variables de diferente naturaleza (cualitativa, cuantitativa, molecular) el Análisis de Procrustes Generalizado (APG) es una metodología que permite analizar toda la información en conjunto sin pérdida de información por transformaciones o adecuación de variables. Es una técnica muy utilizada en evaluaciones de datos agromorfológicos y moleculares en forma

conjunta (Bramardi *et al.*, 2005; Defacio *et al.*, 2006, 2007; Lopes *et al.*, 2006; Costa Tártara *et al.*, 2011; Grandón *et al.*, 2013).

La caracterización de razas locales de maíz de la provincia de Misiones es sumamente escasa. Estudios previos indican la presencia de altos niveles de diversidad genética en el germoplasma local (Melchiorre *et al.* 2006; Bracco, 2012; Bracco *et al.*, 2012, 2013). Sin embargo hasta el momento existen pocos trabajos que analicen aspectos de la diversidad genética a través de marcadores agromorfológicos, moleculares y de calidad nutricional. En este sentido, Bracco *et al.* (2012, 2013) al evaluar 12 razas locales de maíz procedentes de comunidades aborígenes de la etnia Guaraní del norte de la provincia determinaron la presencia de dos acervos génicos principales (reventadores y harinosos) con un alto grado de diversidad y diferenciación entre las poblaciones evaluadas. En tanto que Melchiorre *et al.* (2006) al evaluar poblaciones nativas del NEA a través de caracteres morfológicos, fenológicos y reproductivos reportaron una clara diferenciación de estos acervos en base a la longitud del ciclo y caracteres morfológicos asociados (altura de planta, número de hojas, etc.).

En este capítulo, se analizó la diversidad genética existente en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, a través de caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional. Este estudio permitirá determinar las características diferenciales de las razas locales, aportar al conocimiento del estado y evolución de la diversidad genética local, generando herramientas y capacidades para el manejo, conservación y aprovechamiento de germoplasma nativo. Los objetivos del mismo fueron: i) agrupar las poblaciones locales evaluadas por métodos de taxonomía numérica, ii) caracterizar y elegir las variables agromorfológicas y de calidad nutricional que mejor explican la variación existente, iii) evaluar la diversidad genética de las poblaciones locales de maíz colectadas, y iv) identificar poblaciones o grupos de poblaciones con valor promisorio para el mejoramiento y/o uso directo.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN FUNCIÓN DE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS

La caracterización de poblaciones en base a variables agromorfológicas cuantitativas se llevó a cabo mediante la técnica de ACP. La matriz de datos fue estandarizada (media=0 y varianza=1), los CP fueron calculados a partir de la matriz de correlaciones entre los caracteres. Para determinar el número adecuado de CP se tuvieron en cuenta la proporción de la variación explicada por cada uno, la variancia total acumulada y la interpretación biológica de los valores. La interpretación visual de los resultados se obtuvo mediante la construcción de un gráfico bidimensional, utilizando los dos primeros CP. 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. Otra técnica que permite observar el agrupamiento de las poblaciones es el Análisis de Clúster. El mismo se basó en la matriz de distancias Euclídeas estandarizadas y el método de encadenamiento UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages). Los análisis fueron llevados a cabo usando el software estadístico Infostat Versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

4.2.2. CLASIFICACIÓN DE POBLACIONES EN BASE A CARACTERES DE CALIDAD NUTRICIONAL

La caracterización de las poblaciones en base a parámetros de calidad nutricional se llevó a cabo mediante la aplicación de técnicas de Análisis Multivariado previamente descritas en el apartado 4.2.1.

4.2.3. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN BASE A CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS Y DE CALIDAD NUTRICIONAL EN FORMA CONJUNTA

Al caracterizar a las poblaciones con distintos tipos de variables se obtienen diferentes configuraciones complementarias entre sí. Para evaluarlas en forma conjunta sin pérdida de información, se utilizó la técnica de APG.

Dado que las variables son de diferente naturaleza, fue necesario extraer las coordenadas apropiadas para cada conjunto de datos. Para las variables morfológicas cualitativas se realizó un ACooP, utilizando una extensión del coeficiente de similaridad de Emparejamiento Simple, guardándose los ejes resultantes. La definición de este coeficiente s_{ij} es el número de caracteres en común a las entradas i y j , dividido por el número total de caracteres. Para las variables cuantitativas (agromorfológicas y de calidad) se realizó un ACP sobre las variables estandarizadas, conservándose los ejes resultantes. Para las variables moleculares, se utilizó la distancia de Prevosti (Prevosti, 1974, citado por Wright, 1978), calculada como:

$$d_{ij} = \frac{1}{p} \sum_{k=1}^p |x_{ik} - x_{jk}|$$

Donde d_{ij} es la distancia entre el elemento i y j , p es el número total de bandas y x_{ik} y x_{jk} representan la frecuencia relativa de presencia de la banda k . La matriz de distancia genética se sometió a ACooP y se guardaron los ejes resultantes.

A partir de la matriz de datos obtenida de las coordenadas resultantes en los análisis de los distintos tipos de datos en forma separada se calculó la matriz de consenso y la dispersión de los datos respecto a ésta. La representación gráfica se realizó en el plano con dos ejes. En la misma se observaron los valores de dispersión de los datos cuantitativos, cualitativos y moleculares de cada población, unidas a su respectivo valor consenso por vectores. Un MST originado de las dos primeras coordenadas del APG fue superpuesto en el gráfico observándose más claramente la formación de grupos.

El dendrograma obtenido del Análisis de Clúster a partir de las dos primeras coordenadas del APG y utilizando el método de encadenamiento UPGMA se utilizó para corroborar el agrupamiento obtenido a partir del APG.

Los análisis fueron llevados a cabo usando el software estadístico Infostat Versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN FUNCIÓN DE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS

A partir de la matriz de correlaciones se realizó un ACP sobre los valores medios obtenidos por población. Para explicar la variabilidad encontrada se utilizaron los CP que presentaron un valor *eigen* mayor que 1. Los primeros cinco CP explicaron 88% de la variabilidad total encontrada entre los genotipos (Tabla 4.1).

En particular, el primer CP, que explica el 55% de la variación total, mostró una correlación fuerte con caracteres de ciclo (GDUF, ASI, GDMF), caracteres vegetativos (ALTPL, ALTMZ, INS, NH, DT, AHE, AHB), rendimiento y sus componentes (DMZ, GHIL, P1000, REND, PROL), caracteres de grano (LGR, GGR) y porcentaje de quebrado (Tabla 4.2). Los atributos INS, GGR, PROL y PORQ mostraron una asociación negativa con esta CP (Tabla 4.2). Es decir que poblaciones con altos valores en la CP1 tienen un ciclo de crecimiento más largo, mayor porte y área foliar y mayores rendimiento y peso de mil granos.

El segundo CP, que explicó el 13%, estuvo asociado positivamente con LMZ y AGR, y negativamente con NHIL y DMZ. De esta manera, poblaciones con valores altos en esta componente, se caracterizaron por presentar mazorcas largas de menor diámetro con granos anchos y menor número de hileras.

Tabla 4.1. Valores propios y proporción de varianza explicada en el análisis de Componentes Principales para los caracteres agromorfológicos de poblaciones locales de la provincia de Misiones.

Componentes Principales	Valores propios	Proporción de la varianza total explicada	
		Absoluta (%)	Acumulada (%)
1	13,32	55,0	55,0
2	3,08	13,0	68,0
3	2,27	9,0	78,0
4	1,43	6,0	84,0
5	1,03	4,0	88,0
6	0,87	4,0	92,0
7	0,65	3,0	94,0
8	0,40	2,0	96,0
9	0,26	1,0	97,0
10	0,23	1,0	98,0

Tabla 4.2. Correlación con las variables originales y proporción de varianza explicada por cada variable original sobre los cinco primeros Componentes Principales en la caracterización agromorfológica de poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones.

Variable	Componentes Principales					Proporción de la varianza
	1	2	3	4	5	
GDUF	0,92	0,24	0,22	0,001	-0,06	0,956
GDUM	0,93	0,21	0,14	-0,01	-0,12	0,943
ASI	0,81	0,29	0,38	0,02	0,10	0,895
GDMF	0,95	0,06	-0,05	-0,04	-0,05	0,913
ALTPL	0,87	0,23	0,10	-0,09	-0,05	0,830
ALTMZ	0,92	0,20	0,08	-0,08	-0,04	0,901
NH	0,93	0,23	0,13	-0,11	-0,11	0,959
INS	-0,94	-0,13	-0,06	0,05	0,09	0,915
DT	0,84	0,21	0,17	-0,08	-0,03	0,786
LMZ	-0,15	0,79	-0,28	0,27	0,22	0,846
DMZ	0,74	-0,53	-0,20	-0,27	0,10	0,951
NHIL	0,47	-0,71	0,24	-0,19	0,26	0,886
GHIL	0,62	0,25	-0,22	0,63	0,28	0,971
AGR	0,08	0,59	-0,66	-0,30	-0,25	0,943
LGR	0,86	-0,42	-0,17	-0,04	0,03	0,947
GGR	-0,75	0,33	-0,06	-0,41	0,002	0,843
AHB	0,77	0,09	0,01	0,16	0,43	0,812
AHE	0,86	0,40	0,17	-0,14	0,09	0,956
P1000	0,60	0,07	-0,63	-0,38	-0,09	0,914
REND	0,77	-0,24	-0,48	0,01	0,22	0,929
PMAR	-0,53	0,35	0,29	-0,48	0,43	0,903
PORQ	-0,60	0,32	0,25	-0,31	0,37	0,758
PORV	0,37	-0,02	0,68	-0,03	-0,31	0,697
PROL	-0,65	0,36	0,18	0,21	-0,19	0,665

En negrita se muestran las correlaciones más importantes.

El tercer CP explica el 9% de la variabilidad total encontrada y se correlacionó positivamente con el PORV y negativamente con AGR, P1000 y REND. En tanto que la CP4 (6% de la variabilidad) se encontró asociada principalmente en forma positiva con GHIL y en forma negativa con PMAR y GGR. La quinta CP se correlacionó positivamente con AHB, PMAR y PORQ.

La representación de las poblaciones en el plano principal (Figura 4.1) se realizó mediante las dos primeras CP, las que juntas representan un 68% de la variabilidad total del sistema. Con las mismas se diferenciaron siete grupos que reflejaron diferencias de rendimiento y sus componentes, longitud y sincronía del ciclo y desarrollo vegetativo (Tabla 4.3):

- Grupo 1: grupo extremo, constituido por una sola población de tipo harinoso (P17), caracterizado por registrar el ciclo más precoz y sincrónico, menor porte y área foliar y rendimientos bajos. Presentó además, mazorcas largas y finas con bajo número de hileras y granos pequeños y livianos.

- Grupo 2: comprendió cuatro poblaciones de tipo harinoso (P1, P2, P3 y P16), bajos rendimientos y peso de mil, ciclo corto, plantas bajas, mayor prolificidad, alta proporción de marlo y mayor porcentaje de quebrado.
- Grupo 3: comprendió los dos testigos actuales (T18 y T20), caracterizado por ciclos cortos y sincrónicos, plantas bajas, valores intermedios-altos de rendimiento y sus componentes.
- Grupo 4: formado en su mayoría por poblaciones del BAG (P10, P11, P13, P14 y P15). Registró valores intermedios a altos de rendimiento y sus componentes, desarrollo vegetativo y ciclo.
- Grupo 5: formado por una población de granos harinosos (P12) cuya característica principal es la producción de mazorcas muy largas con menor número de hileras y granos anchos. Además presentó valores intermedios de rendimiento y sus componentes y también de los caracteres fenológicos y vegetativos. Este grupo también registró mayor prolificidad, proporción de marlo y porcentaje de quebrado.
- Grupo 6: grupo formado por una población (P7) que se caracterizó principalmente por presentar las mazorcas de mayor diámetro y número de hileras, con granos largos y finos. Plantas muy altas de gran área foliar, ciclo muy largo y asincrónico y es la población con mayores rendimientos.
- Grupo 7: en este grupo se ubicaron cuatro poblaciones pertenecientes a pequeños productores, derivadas de la colecta actual (P5, P6, P8, P9) y el testigo antiguo (T19). Es un grupo extremo, que comprendió las poblaciones más altas, de ciclo muy largo y asincrónico, con mayores rendimientos y peso de mil granos.

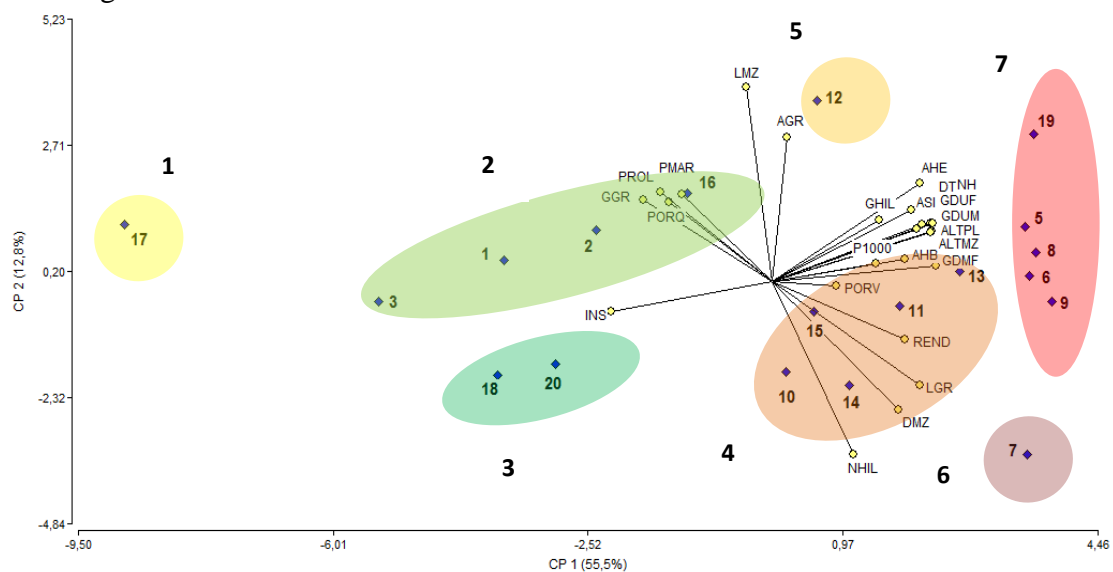


Figura 4.1. Análisis de Componentes Principales de variables agromorfológicas en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones. Colecta actual: 1 (Catete oscuro), 2 (Avatí morotí ti), 3 (Avatí morotí mitá), 5 (Dentado amarillo marlo fino), 6 (Dentado amarillo), 7 (Cravo), 8 (Semidentado), 9 (Semidentado), 10 (Dentado blanco). Materiales del BAG: 11 (Dentado amarillo), 12 (Avatí morotí), 13 (Dentado blanco), 14 (Cravo), 15 (Tuzón), 16 (Avatí morotí ti), 17 (Avatí morotí mitá). Testigos: 18 (Leales 25 plus), 19 (Centralmex) y 20 (Santa Helena 5090).

Los grupos descriptos presentaron la misma conformación a los obtenidos en el dendrograma resultante del análisis de clúster (Figura 4.2). Las características

principales de los grupos son presentados como valores medios dentro de cada grupo en la Tabla 4.3.

La clasificación de las poblaciones en base a caracteres fenológicos, morfológicos y agronómicos, permitió mostrar una separación de las mismas basada en el origen, textura del endosperma y la fecha de colecta de los materiales (Figura 4.1).

Los grupos 1 y 2 correspondieron a materiales de tipo harinoso pertenecientes a comunidades originarias, caracterizados por ciclos cortos, portes y rendimientos bajos, mazorcas largas y finas, con bajo número de hileras. De estos materiales, la población (P17) mostró una clara separación en cuanto a precocidad, altura y rendimiento con respecto a las demás poblaciones de este origen, y con respecto a su homólogo actual (P3).

El grupo 3 reunió a los testigos actuales de grano cristalino, que compartieron con los grupos antes citados el menor porte de planta y la menor longitud del ciclo pero con una clara diferenciación en cuanto a rendimiento.

Tabla 4.3. Media de los caracteres agromorfológicos para los cinco grupos resultantes de la clasificación.

Variable	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	7
GDUF	907,48	1137,70	1037,15	1213,03	1326,23	1290,20	1286,78
GDUM	867,38	1061,64	1000,05	1113,79	1172,18	1154,33	1166,38
ASI	40,08	76,08	37,13	99,23	154,08	135,83	120,39
GDMF	1290,37	1427,16	1457,34	1529,86	1584,08	1557,00	1586,82
ALTPL	163,58	193,00	164,44	207,75	208,40	233,30	234,77
ALTMZ	77,43	106,83	87,32	124,77	124,75	142,50	146,49
INS	2,20	1,87	1,93	1,71	1,68	1,70	1,64
DT	16,89	18,87	18,18	20,46	21,35	21,00	21,06
NH	13,55	16,27	15,25	17,75	18,40	18,10	18,47
LMZ	15,58	14,41	14,67	13,91	15,80	12,63	14,91
DMZ	30,60	34,84	43,98	44,11	37,38	48,50	43,75
NHIL	10,75	11,67	14,64	14,69	13,28	19,38	13,17
GHIL	29,35	29,97	29,84	30,50	30,90	31,43	34,50
AGR	8,38	8,55	8,81	8,40	8,78	7,28	8,91
LGR	8,53	9,55	10,52	11,48	9,58	12,50	12,00
GGR	4,73	4,30	4,48	4,02	4,60	3,73	3,86
AHB	90,97	112,71	107,90	140,88	142,65	155,27	159,31
AHE	381,37	488,12	417,01	566,03	678,96	583,64	614,81
P1000	159,93	163,14	184,07	189,39	171,20	162,75	212,24
REND	2125,01	2331,66	3577,24	3326,55	2993,97	3652,51	3918,99
PMAR	29,15	23,99	22,79	23,07	26,10	23,20	22,24
PORQ	14,15	6,21	2,35	3,95	5,83	2,43	3,00
PORV	5,68	13,07	4,90	21,14	21,30	20,68	12,03
PROL	1,00	1,00	0,98	0,92	1,07	0,90	0,91

Los demás grupos correspondieron a poblaciones provenientes de pequeños productores separados entre sí, por el tiempo de colecta (Grupo 4 y 7), tipo de grano (Grupo 5) y o características especiales de mazorca (Grupo 6). Estos grupos tendieron a presentar ciclos más largos, mayores ASI, gran desarrollo vegetativo, altos rendimientos y peso de mil, mazorcas de mayor diámetro, número de hileras y de granos por hilera.

Por su parte, las poblaciones conservadas en el BAG mostraron una tendencia a presentar un comportamiento medio para las variables evaluadas, mientras que la mayoría de las colectadas actualmente resultaron más altas y con rendimientos superiores (Figura 4.1).

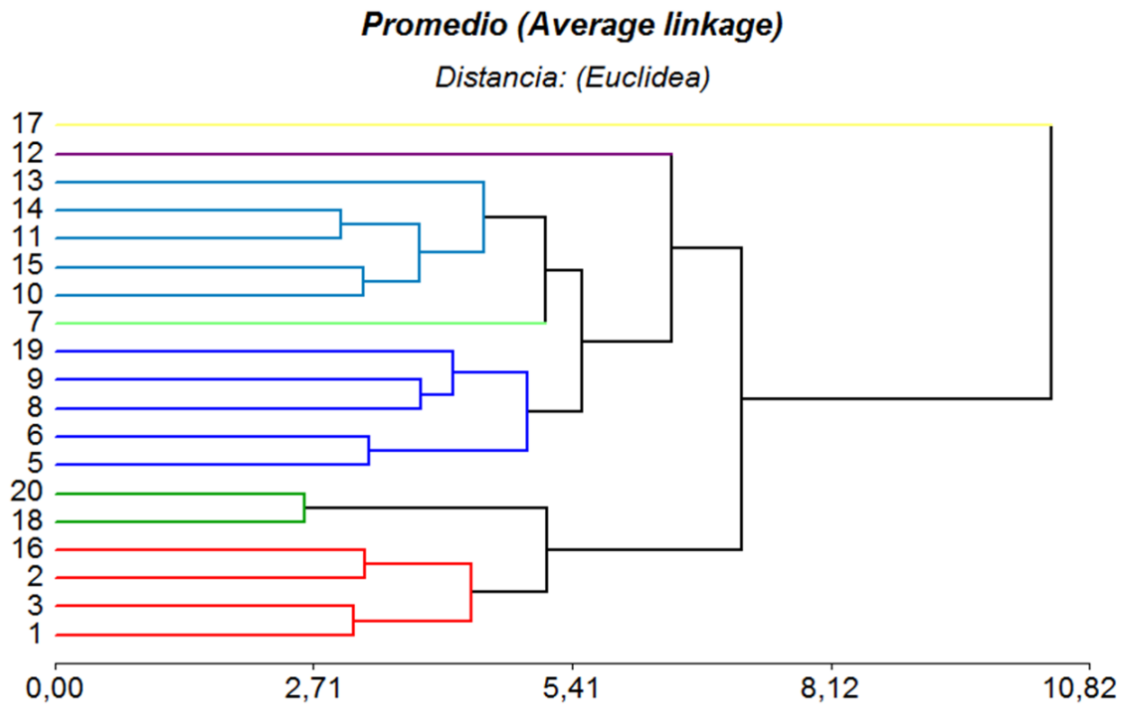


Figura 4.2. Análisis de clúster para variables agromorfológicas en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, utilizando distancias Euclídeas y método de encadenamiento UPGMA.

4.3.2. CLASIFICACIÓN DE POBLACIONES EN BASE A CARACTERES DE CALIDAD NUTRICIONAL

Los primeros cuatro componentes principales (con valores propios mayores a 1) explicaron el 82% de la variación observada para los 13 caracteres de calidad analizados (Tabla 4.4). El primer CP que contribuyó en 37% a la variación total se relacionó con la concentración de almidón, proteína, ácidos grasos oleico y linoleico y la relación AL/ALN y AOL/AL. El segundo CP que explicó el 19% de la variación se correlacionó principalmente con la concentración de ácido palmítico, linolénico y con la relación IN:SAT. El tercer CP se relacionó con la concentración de amilosa, aceite y la relación AMI/AL, contribuyendo con un 15% a la varianza total. En tanto que el cuarto CP con 10% estuvo determinado principalmente por la concentración de ácido linolénico.

Las características de calidad de las poblaciones se representaron en el plano principal usando las primeras dos dimensiones (Figura 4.3), que juntas representan un 56% de la variabilidad total del sistema.

Tabla 4.4. Análisis de Componentes Principales para caracteres de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones. Valores propios, proporción de la varianza explicada, correlación con las variables originales.

CP	Valor propio	Varianza total		Correlación con las variables originales												
		Absoluta (%)	Acumulada (%)	PRO	ALM	AMI	AMI/AL	ACE	PAL	EST	AOL	AL	ALN	AL/ALN	AOL/AL	IN:SAT
1	4,81	37,0	37,0	-0,54	0,76	0,08	-0,51	0,38	-0,34	0,49	0,89	-0,86	0,43	-0,79	0,91	0,15
2	2,46	19,0	56,0	0,07	0,18	-0,23	-0,35	-0,33	-0,74	-0,42	-0,24	0,40	0,57	-0,30	-0,26	0,86
3	1,97	15,0	71,0	-0,21	0,24	0,92	0,63	-0,58	-0,36	0,32	0,01	0,04	-0,11	0,11	0,02	0,20
4	1,36	10,0	82,0	-0,53	0,06	0,13	0,07	-0,08	0,39	0,01	-0,34	0,25	0,61	-0,40	-0,16	-0,40

PRO: proteína; AMI: amilosa; ALM: almidón; AMI/AL: proporción amilosa-almidón; ACE: aceite; PAL: ácido palmítico; EST: ácido esteárico; AOL: ácido oleico; AL: ácido linoleico; ALN: ácido linolénico; AL/ALN: relación ácido linoleico-linolénico; AOL/AL: relación ácido oleico-linoleico; IN:SAT: relación insaturados-saturados. En negrita se muestran las correlaciones más importantes.

El análisis de componentes principales (Figura 4.3) y el análisis de clúster (Figura 4.4) permitieron identificar 8 grupos que reflejaron diferencias en el contenido de almidón y composición de ácidos grasos principalmente:

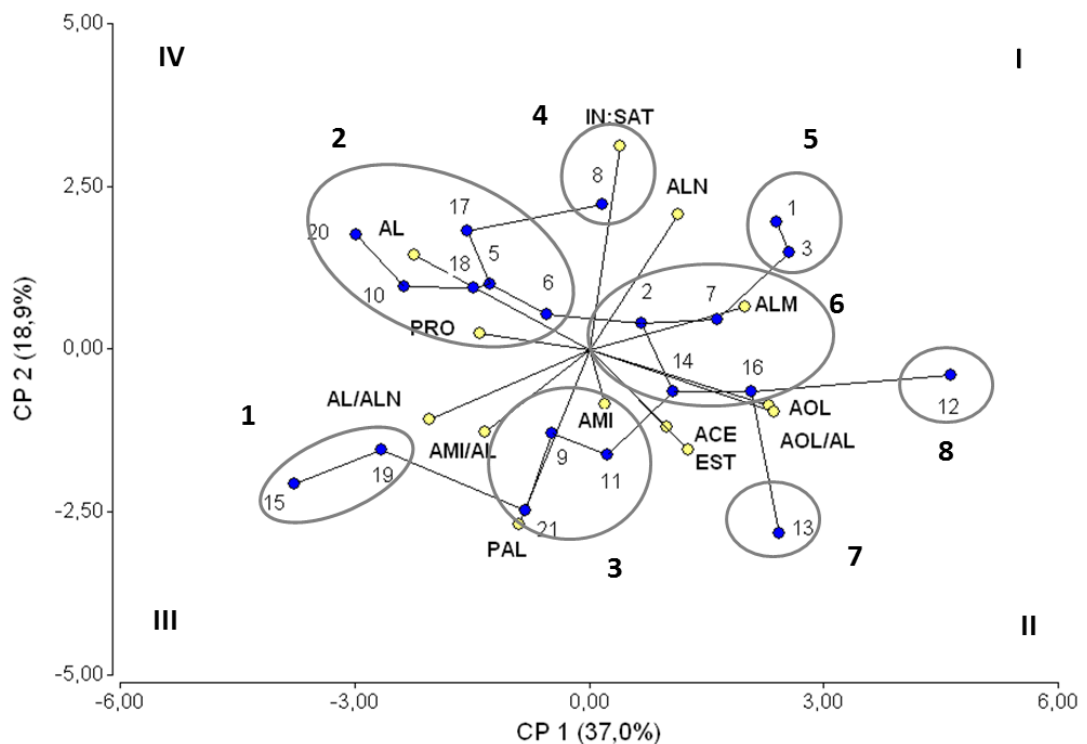


Figura 4.3. Análisis de Componentes Principales para caracteres de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones. Para una mejor interpretación del gráfico se incluye un Árbol de Mínima Distancia (MST) que muestra las interdistancias euclidianas entre poblaciones (longitudes de segmentos). Colecta actual: 1 (Catete oscuro), 2 (Avatí morotí ti), 3 (Avatí morotí mitá), 5 (Dentado amarillo marlo fino), 6 (Dentado amarillo), 7 (Cravo), 8 (Semidentado), 9 (Semidentado), 10 (Dentado blanco). Materiales del BAG: 11 (Dentado amarillo), 12 (Avatí morotí), 13 (Dentado blanco), 14 (Cravo), 15 (Tuzón), 16 (Avatí morotí ti), 17 (Avatí morotí mitá). Testigos: 18 (Leales 25 plus), 19 (Centralmex) y 20 (Santa Helena 5090).

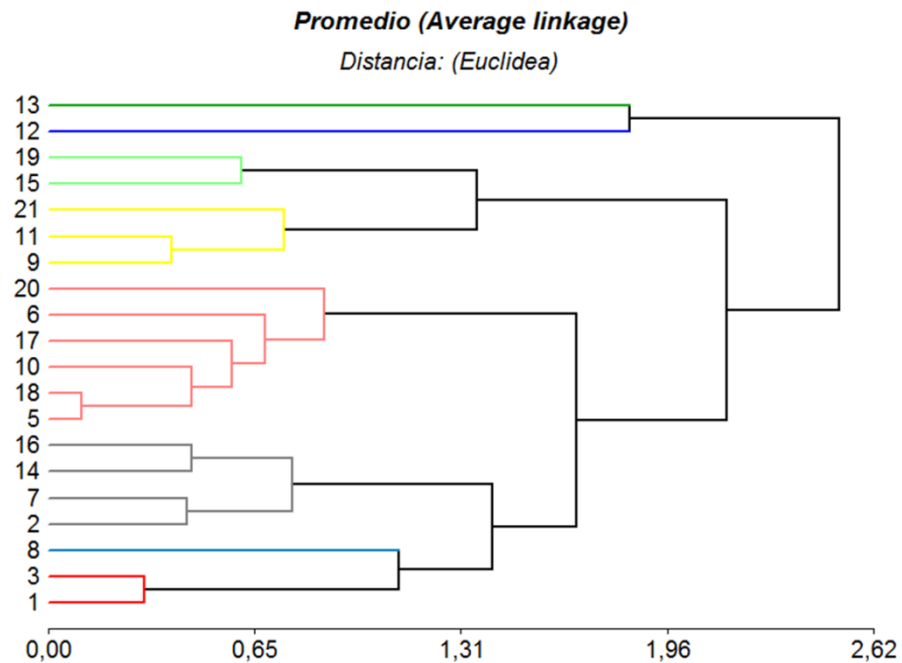


Figura 4.4. Análisis de clúster para variables de calidad nutricional en poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones, utilizando distancias Euclídeas y método de encadenamiento UPGMA.

Grupo 1: formado por dos materiales semidentados (P15 y T19), con altas concentraciones de ácido linoleico, proteína y ácidos grasos saturados (PAL y EST) y una relación AL/ALN muy desbalanceada. Este grupo presenta los valores más bajos de ácido oleico y almidón.

Grupo 2: formado por tres poblaciones de tipo dentado (P5, P6, P10), una harinosa (P17) y los dos testigos cristalinos (T18 y T20). Este grupo se caracterizó por presentar valores intermedios-altos de ácido linoleico, proteínas y de la proporción IN:SAT, y bajos para el resto de los caracteres evaluados.

Grupo 3: formado por las poblaciones P9, P11 y el testigo QPM (T21). Se caracterizó por valores medios-altos de ácidos grasos saturados y valores medios de proteína y ácido oleico.

Grupo 4: integrado por una población semidentada (P8) caracterizada por presentar una alta proporción IN:SAT, altas concentraciones de ácido linoléico, intermedios de proteína, ácido oleico y linoleico y almidón.

Grupo 5: formado por dos poblaciones harinosas (P1 y P3), que presentaron altas concentraciones de ácido linoléico y almidón, valores intermedios-altos de ácido oleico, medios de aceite, bajos de proteína y ácido linoleico, y una relación IN:SAT alta.

Grupo 6: grupo intermedio en cuanto a la composición de ácidos grasos saturados-insaturados y ácido linoléico, con valores medios-altos de almidón y ácido oleico. La concentración de proteína y ácido linoleico fue de tipo intermedio-bajo. En este grupo se ubicaron las poblaciones harinosas P2, P16 y las dentadas P7 y P14.

Grupo 7: conformado por una población de tipo dentada (P13) caracterizada por altas concentraciones de ácidos grasos saturados (PAL y EST) y valores medio-altos de

almidón y ácido oleico. Esta población presenta valores bajos de proteínas y ácido linoleico.

Grupo 8: formado por una población de endosperma harinoso (P12) la cual se diferenció del resto por presentar las mayores concentraciones de almidón y ácido oleico y las menores concentraciones de proteínas y ácido linoleico, presentando valores medios para aquellas características relacionadas con la segunda CP.

4.3.3. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN BASE A CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS Y DE CALIDAD NUTRICIONAL EN FORMA CONJUNTA

A fin de analizar la variabilidad con los distintos tipos de datos en forma conjunta, se utilizó la técnica de APG. La Figura 4.5 muestra el ordenamiento consenso obtenido a partir de las coordenadas resultantes de los análisis de los datos cualitativos, cuantitativos (agromorfológicos y de calidad nutricional) y moleculares. Para facilitar la conformación de los grupos y realizarlo en forma correcta se superpuso sobre el plano de las dos primeras coordenadas un MST originado de la matriz de distancias euclídeas de las mencionadas coordenadas.

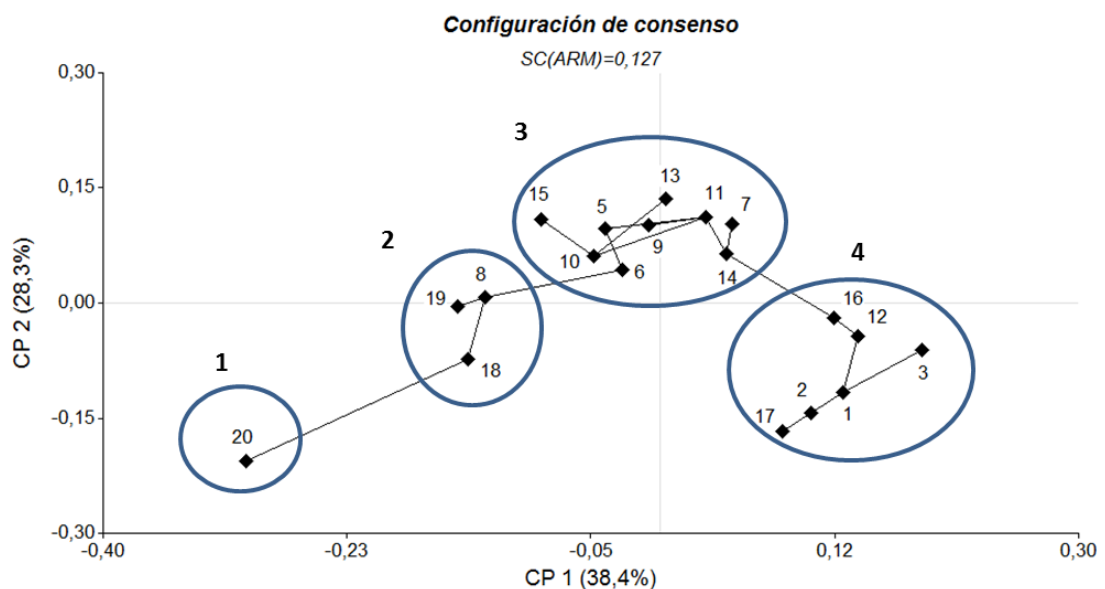


Figura 4.5. Análisis de Procrustes Generalizado. Representación puntos consenso entre caracterización cualitativa, cuantitativa (agromorfológica y de calidad) y molecular. Para una mejor interpretación del gráfico se incluye un Árbol de Mínima Distancia (MST) que muestra las interdistancias euclidianas entre poblaciones (longitudes de segmentos). Colecta actual: 1 (Catete oscuro), 2 (Avatí morotí ti), 3 (Avatí morotí mitá), 5 (Dentado amarillo marlo fino), 6 (Dentado amarillo), 7 (Cravo), 8 (Semidentado), 9 (Semidentado), 10 (Dentado blanco). Materiales del BAG: 11 (Dentado amarillo), 12 (Avatí morotí), 13 (Dentado blanco), 14 (Cravo), 15 (Tuzón), 16 (Avatí morotí ti), 17 (Avatí morotí mitá). Testigos: 18 (Leales 25 plus), 19 (Centralmex) y 20 (Santa Helena 5090).

Los primeros tres componentes son responsables del 38,4, 28,3 y 10% de la variación total respectivamente. El APG identificó claramente 4 grupos distintos (Figura 4.5). Mediante el dendrograma obtenido a partir de las distancias Euclídeas con criterio de encadenamiento UPGMA (Figura 4.6) se obtuvo la misma conformación de los

grupos que con el APG. Las características principales de los grupos son presentados como valores medios dentro de cada grupo en la Tabla 4.5:

Tabla 4.5. Media de los caracteres cuantitativos (agromorfológicos y de calidad) para los cuatro grupos resultantes del Análisis de Procrustes Generalizado.

Variable	Grupo							
	1		2		3		4	
GDUM	1003,45	a	1130,57	b	1128,9	b	1047,68	ab
ASI	30,18	a	91,89	b	111,37	b	83,08	b
ALTPL	162,68	a	219,6	b	217,03	b	190,66	ab
DMZ	43,83	b	43,69	b	44,53	b	34,55	a
NHIL	14,88	b	13,48	ab	14,74	b	11,78	a
AGR	8,73	ab	9,02	b	8,4	a	8,55	ab
LGR	10,58	b	11,17	bc	11,87	c	9,38	a
GGR	4,6	c	4,17	ab	3,89	a	4,42	bc
P1000	188,45	ab	203,39	b	193,38	ab	163,94	a
REND	3851,54	b	3638,84	b	3585,18	b	2407,6	a
PRO	11,47	ab	12,2	b	11,99	ab	11,33	a
ACE	3,86	a	4,45	b	4,81	b	4,96	b
AOL	29,93	a	35,52	ab	35,41	ab	37,02	b
AL	53,97	b	49,02	ab	48,13	ab	47	a
ALN	0,87	b	0,7	a	0,76	ab	0,87	b
AL/ALN	62,2	ab	71,99	b	64,03	ab	54,14	a
AOL/AL	0,57	a	0,72	ab	0,74	ab	0,8	b

Para cada grupo, letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas con el Test de Tukey

Grupo 1: formado por el testigo híbrido de endosperma cristalino (T20), caracterizado por presentar altos rendimientos, porte bajo, ciclo corto y sincrónico, granos gruesos de color anaranjado, mayor concentración de ácido linoleico y linolénico y menores de aceite y ácido oleico.

Grupo 2: integrado por dos testigos varietales (T18: cristalino y T19: semidentado) y una población local (P8) de endosperma semidentado que presentaron altos rendimientos, pesos de mil granos, granos anchos y profundos y que comparten características de calidad tales como mayores concentraciones de proteína y aceite y menores de ácido linolénico.

Grupo 3: constituido por 9 poblaciones locales (P5, P6, P7, P9, P10, P11, P13, P14, P15) en su mayoría de textura dentada, caracterizadas por ciclos largos y asincrónicos, gran porte y altos rendimientos, con granos finos y profundos y valores intermedios para la mayoría de los caracteres de calidad, excepto por las altas concentraciones de aceite.

Grupo 4: incluyó 6 poblaciones locales (P1, P2, P3, P12, P16 y P17), todas ellas de endosperma harinoso, con granos pequeños, dispuestos sobre mazorcas finas con pocas hileras, bajos rendimientos y peso de mil. Mayores concentraciones de aceite, ácido oleico y linolénico y menores de proteína y ácido linoleico.

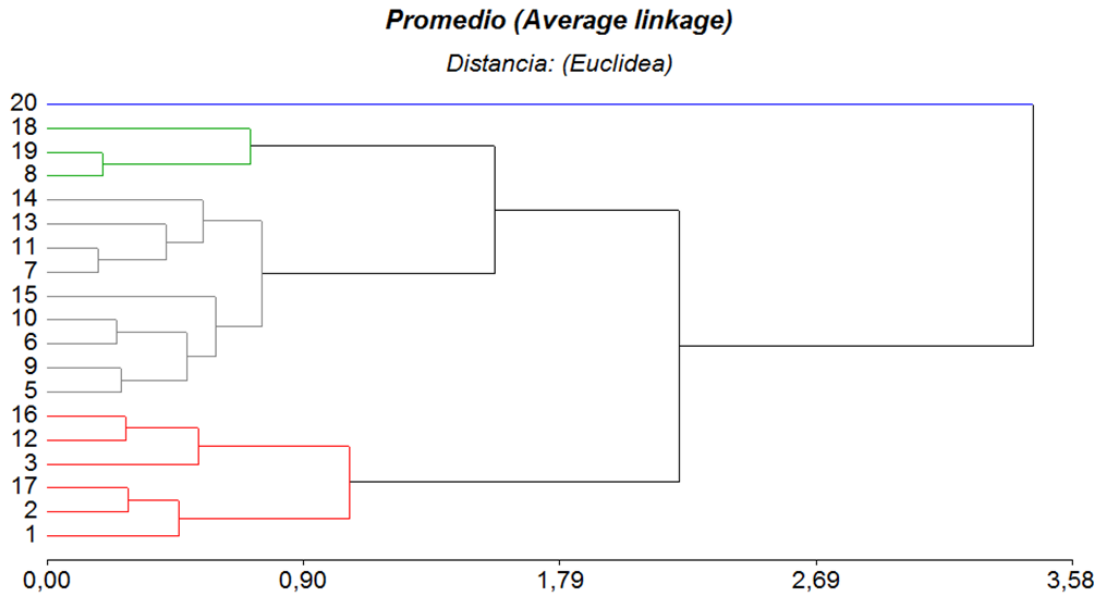


Figura 4.6. Análisis de Clúster para los valores consenso de la caracterización cualitativa, cuantitativa (agromorfológica y de calidad) y molecular, utilizando distancias euclídeas y el método de encadenamiento UPGMA.

4.4. DISCUSIÓN

4.4.1. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN FUNCIÓN DE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS

Las primeras cinco componentes del ACP representan el 88% de la variación total, mientras que las CP1 y CP2 en conjunto explican 68% de la variabilidad encontrada entre las poblaciones evaluadas. Resultados similares aunque levemente inferiores son reportados por Gouesnard *et al.*, 1997 ($r = 51\%$), Brandolini y Brandolini, 2001 ($r = 52\%$), Defacio, 2009 ($r = 53\%$), N'Da *et al.*, 2014 ($r = 55\%$) al utilizar las dos primeras CP para explicar la variabilidad encontrada al evaluar poblaciones locales de maíz. El alto porcentaje de variación total explicada por estas componentes en el presente estudio sugiere que los caracteres utilizados mostraron una gran capacidad discriminadora de la colección de trabajo, resultando útiles para la caracterización agromorfológica de la misma. La diferencia con los resultados reportados por dichos autores se relacionaría con el mayor número de poblaciones evaluadas en esos trabajos.

Las variables que más influyeron en la separación de las poblaciones fueron las relacionadas con el crecimiento vegetativo, las variables fenológicas y los componentes de rendimiento. Las poblaciones ubicadas en el lado positivo del CP1 tendieron a presentar ciclos más largos, mayor altura de planta y área foliar, mayores rendimientos y peso de mil granos. En tanto que los valores más altos del CP2 se asociaron con poblaciones de mazorcas largas, menor número de hileras y granos anchos (Figura 4.1). Los atributos que integraron las primeras dos componentes, además de explicar la máxima variabilidad entre las poblaciones evaluadas, son importantes para el mejoramiento genético ya que están relacionadas con el rendimiento y sus componentes, con la arquitectura de la planta y con la duración del ciclo. Al evaluar poblaciones locales de maíz de diferentes partes del mundo, Alike *et al.* (1993), Brandolini y Brandolini (2001), Lucchin *et al.* (2003), Defacio (2009), Santa Rosa *et al.* (2012) y N'Da *et al.* (2014) encontraron que las variables relacionadas con el ciclo, el porte de

planta y el rendimiento y sus componentes son los caracteres que más contribuyen a la diferenciación entre genotipos. El aporte de estas variables en la estructuración de la diversidad es un reflejo de la selección fenotípica directa o indirecta realizada por el agricultor, basada principalmente en caracteres fácilmente discernibles (fenológicos, vegetativos y de mazorca). Esto se corresponde con lo descrito por Louette y Smale (2000) y Bellon *et al.* (2002) en dos sistemas productivos de México.

La disposición de los grupos en el gráfico biplot delinea la presencia de un continuo fenotípico en características tales como ciclo, crecimiento vegetativo y rendimiento y sus componentes. Esto refleja una progresión gradual en el nivel de expresión de tales atributos a nivel de grupos, desde el más precoz, con plantas más pequeñas y menores valores de rendimientos (Grupo 1), hasta los más tardíos, con plantas de mayores porte y rendimiento (Grupos 6 y 7), pasando por los de expresión intermedia (Grupos 2, 3, 4 y 5). Este patrón de distribución de la diversidad refleja el largo proceso co-evolutivo de agricultores y sus cultivos y podría asociarse a los factores reportados por Pressoir y Berthaud (2004) para explicar la diversificación fenotípica de maíces nativos de los Valles Centrales de Oaxaca (México) tales como flujo génico entre y dentro de localidades, diferentes prácticas de manejo y distintas estrategias de selección.

Por otra parte, pudo observarse que mientras que las poblaciones conservadas en el BAG mostraron una tendencia a presentar un comportamiento medio para las variables evaluadas, la mayoría de las poblaciones colectadas recientemente resultaron más altas, con ciclos más largos y rendimientos superiores (Figura 4.1). Estas diferencias podrían estar asociadas con el proceso de selección practicado por los agricultores, con la sustitución por materiales mejorados provenientes de otras regiones y/o con la “contaminación” con polen de variedades/híbridos modernos.

Por lo general, las poblaciones locales pasan de un agricultor a otro durante generaciones. Muchas provienen de variedades antiguas, con introgresión de genes de variedades y/o híbridos mejorados, siendo el origen de estas poblaciones, en la mayoría de los casos, desconocido. La selección usada es de tipo masal, centrada principalmente en caracteres de la mazorca, con una presión de selección baja; no obstante, fue posible observar una tendencia al aumento de la productividad en las colectas actuales. Por otra parte, a pesar de que la selección se basa principalmente en estos caracteres, existe una selección indirecta de características vegetativas dada la alta correlación positiva existente entre los componentes de rendimiento y la biomasa total producida durante el ciclo del cultivo (Louette y Smale, 2000; Dreccer *et al.*, 2003).

La avidez del agricultor por probar nuevos materiales ha llevado, en muchos, casos al reemplazo de sus poblaciones locales por variedades mejoradas más productivas y, en otros, a la recombinación consciente y/o inconsciente de ambos tipos de poblaciones. La cercanía geográfica de las áreas de producción de Brasil, que presenta ambientes con características edafoclimáticas similares a las observadas en la región y los estrechos vínculos de tipo familiar y social existente entre ambos países han llevado a una continua introducción de numerosos híbridos o variedades mejoradas provenientes de las zonas productivas limítrofes. Esta tendencia, sumada al manejo tradicional practicado en chacras de escasas superficies (25 ha promedio), conduce a la siembra en áreas contiguas de materiales comerciales y poblaciones locales, sin barreras físicas ni temporales que permitan el aislamiento reproductivo. De esta manera, la

“contaminación genética” causada por la dispersión de polen procedente de materiales comerciales ha ocurrido y seguirá ocurriendo.

La diferenciación genética observada en las poblaciones procedentes de la colecta actual (Grupo 6 y 7) con respecto a las colectas más antiguas (Grupo 4) sugiere cierto grado de erosión genética de estos materiales (Figura 4.1). Por su parte, la asociación del testigo antiguo (T19) con las poblaciones de tipo dentado y semidentado de la colecta actual, sumado a los mayores valores absolutos de rendimiento, porte y ciclo presentes en este grupo, sugieren cierto grado de introgresión genética de este u otro material mejorado. Es importante recalcar que los materiales del BAG fueron colectados en el año 1977 y que la fecha de ingreso a la provincia de dicho testigo data ya desde 1969. Por su parte los testigos actuales (T18 y T20) son de difusión posterior.

Una situación similar puede observarse en el contexto productivo de los pueblos originarios, donde la continua expansión y transformación de la frontera agrícola comercial a expensas de sus territorios ocasiona importantes cambios estructurales y funcionales en sus sistemas, implicando muchas veces el abandono de sus prácticas culturales y/o productivas, lo que ocasiona un brusco cambio en su hábito alimenticio tradicional. Los que otrora disponían de vastas superficies, ricas en diversidad, aisladas cultural y productivamente, hoy se ven expuestos a superficies cada vez más reducidas, menos diversas y más susceptibles a la influencia de las costumbres y cultivos foráneos. La adopción de nuevas prácticas, tales como la cría de aves, conduce a la incorporación de nuevos cultivares de maíz (dentados en su mayoría) más adecuados para su alimentación. Esto, sumado a la cercanía de sus lotes de producción de maíz con los de otros productores locales, sin barreras de aislamiento espacial o temporal adecuadas, conduce a cierto grado de contaminación genética de estos materiales. Todo esto podría contribuir a explicar la gran diferenciación fenotípica observada al comparar las poblaciones P17 y P3 correspondientes a la colecta antigua y reciente, respectivamente, donde la P3 muestra un alargamiento del ciclo, un aumento del porte y del rendimiento.

Los resultados obtenidos realzan la importancia de complementar la conservación de recursos genéticos en el agroecosistema donde se desarrollaron (*in situ*) con la realizada en bancos de germoplasma (*ex situ*). La primera en un sistema dinámico que ayuda a mantener intacto el contexto técnico, social, cultural y ambiental en el que estas poblaciones se desarrollaron (Lucchin *et al.*, 2003), en tanto que la segunda permite el resguardo de las variedades originales y el mantenimiento de variantes útiles para mejoradores y/o agricultores.

Teniendo en cuenta que la introducción de nuevos materiales y el flujo genético entre campos es un proceso que seguirá ocurriendo, la intensificación de la presión de selección sobre caracteres de mazorca y vegetativos podría mejorar las características agronómicas de las variedades sin modificar drásticamente su diversidad.

4.4.2. CLASIFICACIÓN DE POBLACIONES EN BASE A CARACTERES DE CALIDAD NUTRICIONAL

El análisis de componentes principales proporcionó una caracterización preliminar de la calidad nutricional de las poblaciones evaluadas. El agrupamiento de las poblaciones se basó principalmente en las concentraciones de almidón y proteína y en la composición de ácidos grasos. Las poblaciones se distribuyeron en los cuatro cuadrantes del biplot (Figura 4.3) mostrando una gran variabilidad genética en la composición bioquímica de los granos. Diversos estudios sugieren la presencia de gran

diversidad para estos parámetros en diferentes fuentes de germoplasma (Pollak y Scott, 2005; Jaradat y Goldstein, 2013). El cultivo por años de esas poblaciones en diferentes localidades y bajo diferentes condiciones de manejo podrían haber contribuido a generar las diferencias de composición entre variedades (Osorno y Carena, 2008), al igual que las correlaciones positivas o negativas con otras características bajo selección, tales como rendimiento, peso de mil granos, etc. (Jaradat y Goldstein, 2013).

Tanto el ACP como el análisis de clúster muestran una clasificación preliminar de los materiales en grupos de diversidad genética similar, de manera que el mejorador puede visualizar las distancias genéticas entre las accesiones y decidir las mejores variedades a ser seleccionadas basadas en los caracteres de importancia (Shegro *et al.*, 2013). Del mismo modo, puede proveer una indicación preliminar de cuales genotipos tienen una mayor probabilidad de tener éxito como parentales, disminuyendo el número de combinaciones posibles a ser usadas en un programa de mejoramiento para esos caracteres (Osorno y Carena, 2008). El siguiente paso deberá incluir el mejoramiento de estos nuevos grupos de diversidad genética a través de selección recurrente recíproca, lo que permitirá aumentar las respuestas heteróticas entre poblaciones. Además la incorporación del análisis de otros atributos de calidad adicionales, tales como contenido de carotenoides, tocoferoles y composición de aminoácidos, reviste también gran interés, si se tiene en cuenta el uso principalmente alimenticio que tiene el maíz en la región.

4.4.3. CLASIFICACIÓN DE LAS POBLACIONES EN BASE A CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS Y DE CALIDAD NUTRICIONAL EN FORMA CONJUNTA

En esta tesis se caracterizó poblaciones locales de maíz de la provincia de Misiones en base a caracteres agromorfológicos y de calidad nutricional. Dichas mediciones provienen de ensayos realizados en diferentes campañas agrícolas. Los datos agromorfológicos (Capítulo 2) corresponden al promedio de 4 ambientes diferentes de la provincia por lo que se considera que representan adecuadamente la variabilidad ambiental presente en la misma. En tanto que la información resultante de la caracterización nutricional (Capítulo 3) surge de una campaña agrícola (2012/13), en la que no pudo observarse un impacto diferencial de las condiciones climáticas sobre los distintos materiales y caracteres evaluados.

El uso de técnicas multivariadas que permiten integrar distintos tipos de datos, tales como el APG, posibilitó la observación más detallada de la relación entre poblaciones, a través de la formación de 4 grupos más homogéneos (Figura 4.5), además de permitir la detección de casos especiales, en los que ciertas poblaciones se agruparon de determinada forma usando ciertos caracteres y presentando características diferentes al usar otro tipo de variables. En estudios realizados en pepino (*Cucumis sativus L.*) Bramardi *et al.* (2005) realzó la importancia y el poder discriminatorio del análisis conjunto de variables agronómicas y moleculares, indicando que el APG fue la técnica más precisa para clasificar las entradas, además de permitir un estudio más profundo de las relaciones entre las ordenaciones relativas de un mismo genotipo bajo diferentes tipos de descriptores. Estos resultados se corresponden en líneas generales con los reportados por Lopes *et al* (2006) al evaluar la relación entre características enológicas y moleculares de 37 cepas patagónicas de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

Del análisis conjunto se destaca una fuerte asociación de las poblaciones locales con el tipo de endosperma y/o forma racial a la que pertenecen, tal como se muestra en el APG (Figura 4.5) y el dendrograma obtenido a partir de la matriz de distancia de los valores consenso (Figura 4.6). Los cuatro grupos obtenidos reflejan además claras diferencias en cuanto a crecimiento vegetativo, longitud del ciclo y sincronía floral, rendimiento y sus componentes, forma del grano, concentración de aceite, proteína y perfil de ácidos grasos (Tabla 4.5).

Este tipo de evaluaciones tienen una gran importancia para el mejoramiento genético del cultivo ya que permiten agrupar poblaciones en base a su similitud y mediante técnicas adicionales es posible identificar cuales caracteres son los que las diferencian y, de esta manera, realizar una preselección en base a los mismos. El uso de distintos marcadores y los distintos agrupamientos obtenidos con las técnicas utilizadas permitirán una selección o *screening* más rápido y eficiente de poblaciones para continuar con evaluaciones más específicas, como resistencia a estrés biótico y abiótico, calidad asociada a usos específicos, etc.

La variabilidad encontrada en las poblaciones evaluadas en este estudio es de gran utilidad para el mejoramiento genético. Existen diversas formas de incorporar dichas poblaciones a los programas de mejoramiento del cultivo (Defacio, 2009). Una de ellas consiste en seleccionar, dentro de cada grupo identificado, un bajo número de poblaciones y, de esta manera, la variabilidad total del sistema evaluado se encontrará representada en un menor número de poblaciones. Un ejemplo de esto es la selección de Colecciones Núcleo que se realiza en base a la forma racial, características geográficas de la zona de origen y ciertas características diferenciales de interés para curadores y/o mejoradores (Taba, 1999, Li *et al.*, 2004; Gouesnard *et al.*, 2005; Coimbra *et al.*, 2009).

Otra forma consiste en seleccionar un mayor número de poblaciones de un grupo de interés para formar compuestos y/o poblaciones sintéticas o realizar cruzamientos con material *élite* y, a partir de ahí, derivar líneas. Salhuana *et al.* (1998) identificaron germoplasma con un comportamiento igual o superior al de los testigos al evaluar los cruzamientos de 69 poblaciones selectas del LAMP (Latin American Maize Project) con dos probadores (híbridos simples) originarios de U.S.A. pertenecientes a los dos grupos heteróticos más importantes de ese país y encontraron que ciertas accesiones presentaron un buen desempeño en la mayoría de los países donde se evaluaron. Nass y Coors (2003) detectaron numerosos cruzamientos con potencial para elevar el rendimiento y la calidad de silaje en el germoplasma de U.S.A. al evaluar la introgresión de germoplasma latinoamericano proveniente del GEM (Germplasm Enhancement of Maize) en un programa de mejoramiento de maíz para silo. Rodríguez *et al.* (2007) identificaron germoplasma base promisorio para mejorar la tolerancia a bajas temperaturas al cruzar nueve poblaciones de polinización abierta tolerantes al frío con cinco líneas endogámicas, tres de ellas tolerantes a bajas temperaturas y dos testigos de buena aptitud combinatoria. Delucchi *et al.* (2012) encontraron un gran potencial para el desarrollo de líneas puras y para mejorar la variabilidad genética del cultivo de maíz al evaluar el potencial agronómico de 15 landraces procedentes de Argentina, a través de cruzamientos con cinco líneas de diferentes grupos heteróticos. La elección de una u otra estrategia dependerá de los objetivos y de la etapa en la que se encuentre el programa de mejoramiento.

4.5. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos es posible concluir que las poblaciones locales examinadas en este trabajo albergan niveles considerables de diversidad genética para los caracteres agromorfológicos y de calidad evaluados.

La diferenciación fenotípica observada entre poblaciones está fuertemente asociada con el tipo de endosperma, la arquitectura de planta, la duración del ciclo, los componentes de rendimiento y de calidad del grano.

La diversidad observada mostró patrones consistentes con el origen y tiempo de colecta de los materiales. Las diferencias en las preferencias, usos, costumbres y el relativo aislamiento existente entre integrantes de “pueblos originarios” y “pequeños productores” pueden haber contribuido a la gran diferenciación agromorfológica detectada entre poblaciones locales de maíz provenientes de ambos grupos. La tendencia a mayores rendimientos, crecimiento vegetativo y longitud del ciclo en las colectas actuales sugieren la existencia de procesos de selección, sustitución y/o introgresión genética de materiales mejorados. Estos resultados tienen profundas implicancias sobre la conservación de los recursos genéticos locales, realzando la importancia de la complementación de métodos de conservación de recursos genéticos en el agroecosistema donde se desarrollaron (*in situ*) con la realizada en bancos de germoplasma (*ex situ*).

El uso de técnicas multivariadas permitió la identificación y selección preliminar de poblaciones o grupos de poblaciones con características diferenciales para los caracteres agromorfológicos y de calidad evaluados, sentando las bases para futuros programas de mejoramiento locales.

CAPITULO 5

DISCUSIÓN GENERAL

5.1. SÍNTESIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

El presente trabajo se centró en una de las zonas menos estudiadas de la distribución de maíz en nuestro país, el noreste argentino (NEA). En esta región existen comunidades aborígenes y pequeños agricultores de subsistencia que aún conservan una gran variedad de razas nativas de maíz para su alimentación (Bracco *et al.*, 2012). Sin embargo el avance de la frontera agrícola y la pérdida de costumbres y tradiciones asociadas a su uso, ponen en serio riesgo su conservación (Wood y Lenne, 1997; Lucchin *et al.*, 2003; Lobo Arias y Medina Cano, 2009; Granados Sánchez *et al.*, 2009; Berretta *et al.*, 2010).

Al momento de iniciada esta tesis los estudios a nivel regional estuvieron centrados en el análisis de la diversidad genética y estructura poblacional de razas de maíz pertenecientes a dos acervos genéticos principales: reventadores y harinosos (Melchiorre *et al.*, 2006; Bracco *et al.*, 2009, 2012, 2013; Bracco, 2012). Todos estos trabajos describen la presencia de altos niveles de diversidad genética en el germoplasma local mediante el empleo de marcadores microsatélites (Bracco *et al.*, 2009, 2012, 2013; Bracco, 2012) y caracteres morfológicos, fenológicos y reproductivos (Melchiorre *et al.*, 2006). Se reportan además diferentes niveles de diversidad entre los acervos genéticos identificados y un alto grado de diferenciación genética a nivel de razas relacionados con procesos de erosión genética diferencial y existencia de barreras biológicas y/o humanas que reducirían el flujo génico (Bracco *et al.*, 2012, 2013). Sin embargo hasta el momento no existía información acerca de variables agronómicas y de calidad de poblaciones locales de estas y otras formas raciales, ni estudios que aporten al conocimiento del estado y evolución de la diversidad genética del cultivo en la región.

De acuerdo a esto y con el objetivo de aportar información relevante para la generación de estrategias locales de conservación, utilización y revalorización de los recursos genéticos nativos se estudiaron 16 poblaciones locales de maíz mediante descriptores agromorfológicos, de calidad nutricional y moleculares asociados al locus *Opaco-2*. Las poblaciones evaluadas reflejaron diferente origen y fecha de colecta, siendo seleccionadas considerando diferentes tipos raciales y ambientes de desarrollo.

Los resultados presentados constituyen una contribución original al conocimiento ya que aportan información novedosa del comportamiento agronómico y características nutricionales de poblaciones locales de maíz en el contexto ambiental y productivo de la provincia, además la utilización de poblaciones con diferente origen y fecha de colecta permite aportar al conocimiento del estado y evolución de la diversidad genética del cultivo en la región. La información generada es de gran importancia para el desarrollo de medidas tendientes a la protección y utilización de dichos recursos.

La caracterización agromorfológica de las poblaciones locales se realizó en cuatro ambientes de la provincia siguiendo un esquema de manejo de bajos insumos comúnmente utilizado por los productores locales. La elección de ambientes con diferente historial de uso agrícola y situaciones nutricionales contrastantes permitieron poner en relieve el profundo impacto que tiene la diversidad ambiental existente en la provincia y el sistema de manejo empleado por los agricultores sobre el potencial productivo de los materiales (Tabla 2.8). A pesar de que en este trabajo no se midieron aspectos fisiológicos relacionados con el desarrollo foliar y la eficiencia de intercepción y uso de la radiación, las diferencias observadas a nivel de biomasa producida y

rendimientos sugieren cambios en estos procesos, tal como se describen en numerosos estudios en situaciones de estrés nutricional (Girardin *et al.*, 1987; Uhart y Andrade, 1995a,b; Andrade *et al.*, 1996). Por otra parte, la existencia de interacciones GxA significativas en los materiales evaluados revela cierto grado de plasticidad fenotípica y/o la presencia de adaptabilidades específicas de ciertos materiales a ciertas condiciones ambientales. Esta interacción sumada a la gran variación ambiental existente en la provincia dificulta enormemente la identificación de los mejores genotipos en los programas de mejora, además de condicionar los objetivos del mejoramiento (adaptación amplia o específica) y la elección de las localidades de selección. Esto pone en evidencia la necesidad de contar con estudios más extensos, con un mayor número de ambientes de evaluación y variaciones interanuales, para aumentar la eficiencia de la selección de las poblaciones, e identificar materiales con adaptación a nichos específicos o a zonas más amplias.

Los resultados muestran que las poblaciones locales de la provincia de Misiones albergan considerables niveles de diversidad genética en caracteres de importancia agronómica (Figura 4.1) y de calidad nutricional (Figura 4.3), identificándose materiales con un desempeño superior o igual a los testigos comerciales utilizados. Los parámetros de calidad evaluados brindan información preliminar valiosa desde el punto de vista del mejoramiento genético y la revalorización de los recursos nativos. Sin embargo al tratarse de resultados obtenidos en un ambiente y condición de manejo particular, sería conveniente extender la evaluación a nuevos ambientes y condiciones de manejo lo que permitirá generar información para el ajuste y validación de protocolos de producción que permitan expresar además del potencial agronómico una mayor calidad definida en función de la demanda.

El empleo de técnicas multivariadas permitió la identificación y selección preliminar de poblaciones o grupos de poblaciones con características diferenciales para los caracteres agromorfológicos y de calidad evaluados, sentando las bases para futuros programas de mejoramiento locales. Además la aplicación de estas técnicas permitió obtener información adicional acerca de la relación de estas poblaciones y el estado y evolución de la diversidad del cultivo en la región. La diversidad observada mostró patrones consistentes con el origen y tiempo de colecta de los materiales (Figura 4.1 y 4.2), observándose una clara separación de las poblaciones locales procedentes de pueblos originarios y pequeños productores y una tendencia a mayores rendimientos, crecimiento vegetativo y longitud del ciclo en las colectas actuales. Esto pone de manifiesto por un lado la existencia y persistencia de barreras geográficas y culturales que preservan la identidad de las razas locales dentro de cada origen. Y por otro la naturaleza dinámica de la conservación de estos recursos, sometida a procesos de selección, sustitución y/o introgresión genética de materiales mejorados. Esto tiene profundas implicancias sobre la conservación de los recursos genéticos locales, realzando la importancia de la complementación de métodos de conservación de recursos genéticos en el agroecosistema donde se desarrollaron (*in situ*) con la realizada en bancos de germoplasma (*ex situ*).

5.2. CONCLUSIONES RELEVANTES

Sobre la base de los resultados obtenidos en esta tesis y discutidos en las secciones precedentes se puede concluir que:

Las poblaciones de maíz colectadas en la provincia de Misiones presentaron variabilidad para los caracteres agromorfológicos, moleculares y de calidad nutricional evaluados, identificándose poblaciones locales que superaron en rendimiento, calidad y otros atributos agronómicos la performance de los testigos mejorados.

La gran diversidad ambiental de la provincia, sumado a un enfoque productivo de bajos insumos, impacta sobre el potencial productivo de los materiales, los que responden de manera diferencial en base a su plasticidad fenotípica y/o adaptabilidades específicas.

Se evidenció una capacidad diferencial de las poblaciones locales para aportar avances en cada uno de los caracteres de calidad evaluados. Se identificaron materiales con características sobresalientes en cuanto a concentración de proteína, almidón y aceite en grano y en la composición de ácidos grasos, sugiriendo cierta ventaja comparativa para la alimentación humana y/o animal.

Los marcadores microsatélites utilizados permitieron poner en evidencia la existencia de variabilidad alélica a nivel del locus Opaco-2 en el germoplasma local lo que permitirá sentar las bases para estudios de mapeo y desarrollo de marcadores dirigidos a regiones de interés.

La diversidad evaluada mostró diferencias en cuanto a su origen y tiempo de colecta. Esto sugiere como altamente probable la incidencia de factores de tipo racial y uso específicos en la diferenciación agromorfológica ocurrida entre las poblaciones procedentes de “pueblos originarios” y aquellas pertenecientes a “pequeños productores”. La tendencia a mayores rendimientos, crecimiento vegetativo y longitud del ciclo en poblaciones actuales reflejaría procesos de selección, sustitución y/o “contaminación” con polen de variedades/híbridos modernos, realzando la importancia de la complementación de métodos de conservación de recursos genéticos en el agroecosistema donde se desarrollaron (*in situ*) con la realizada en bancos de germoplasma (*ex situ*).

Las técnicas multivariadas empleadas permitieron la identificación de materiales con características similares y/o diferenciales para los caracteres evaluados, lo que facilitará la selección preliminar de los mismos para su posterior incorporación y utilización en programas de mejoramiento. Del análisis conjunto se destaca una fuerte asociación de las poblaciones locales con el tipo de endosperma y/o forma racial a la que pertenecen.

5.3. IMPLICANCIAS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

Los resultados aquí presentados proveen información útil para el diseño de estrategias de conservación y uso de los recursos genéticos locales. Teniendo en cuenta que no existe información previa para variables agronómicas y de calidad nutricional en el germoplasma local en los contextos productivos de la provincia, ni trabajos previos de selección para dichos caracteres, los resultados obtenidos proveen información valiosa para su utilización futura en programas de mejoramiento centrados en la mejora de estos caracteres. La detección de poblaciones locales de buen comportamiento agronómico y con características de calidad diferenciales pone en evidencia el potencial genético presente en el germoplasma local, lo que permitirá su revalorización como recursos de uso directo por parte de las comunidades autóctonas así como insumo para

el mejoramiento genético de la especie. La realización de estudios que abarquen un mayor número de poblaciones y de ambientes de producción permitirá detectar variación genética adicional así como patrones de adaptación amplia o específica de los materiales.

En base a los resultados obtenidos, se plantean algunas posibles propuestas de trabajo a futuro:

- Concientización de los productores respecto a la importancia de la conservación de la diversidad del maíz, difusión de técnicas de manejo y almacenamiento adecuadas que eviten la pérdida y/o “contaminación” de estos invaluable recursos genéticos. Promoción de redes de resguardo e intercambio de germoplasma al que tengan acceso los productores (ej. Ferias de semillas).
- Establecimiento de estrategias de mejoramiento participativo que permitan mejorar las características agronómicas de las poblaciones, satisfaciendo la demanda de materiales con adaptación a condiciones e intereses específicos.
- Mejoramiento de los grupos de diversidad genética obtenidos a través de selección recurrente recíproca, lo que permitirá aumentar las respuestas heteróticas entre poblaciones.
- Selección de grupos de interés para formar compuestos y/o poblaciones sintéticas o realizar cruzamientos con material *élite* y, a partir de ahí, derivar líneas de utilidad en los programas de mejoramiento.
- Establecimiento de estrategias de mejoramiento para caracteres de calidad.
- Incorporación de análisis de calidad adicionales, tales como contenido de carotenoides, tocoferoles y composición de aminoácidos que revisten gran interés considerando el uso principalmente alimenticio que tiene el maíz en la región.
- Estudios adicionales de heredabilidad y mapeo que permitan medir el grado de correlación entre materiales con ciertos patrones alélicos y su contenido de lisina y triptófano a nivel bioquímico.
- Estudios de secuenciación del locus Opaco-2 en poblaciones locales del NEA.
- Diseminación de las accesiones con mejores resultados y los productos mejorados derivados de las mismas.

CAPITULO 6

BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 1995. Approved Method of the AACC. 9th Edition, American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Abadie, T. y Beretta, A. 2001. Caracterización y evaluación de recursos filogenéticos. Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR.
- Acevedo, E. y Martínez, E. 2003. Sistema de labranza y productividad de los suelos. En: Acevedo (ed). Sustentabilidad de cultivos anuales, cero labranza y manejo de rastrojos. Serie Ciencias Agronómicas N° 8.
- Acosta, R., Ríos, H., Kessel, A., Martínez, M., Ponce, M. 2007. Selección participativa de germoplasma Cubano de maíz (*Zea mays* L.) en el sistema local de Batabanó, La Habana. Cultivos Tropicales 28(2):63-70.
- Alexander, D.E. y Lambert, R.J. 1968. Relationship of kernel oil content to yield in maize. Crop Science 8:273-274.
- Alezones, J., Ávila, M., Chassaigne, A., Barrientos, V. 2010. Caracterización del perfil de ácidos grasos en granos de híbridos de maíz blanco cultivados en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 60(4):397-404.
- 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.
- Aliko, J.E., Aken`Ova, M.E., Fatokun, C.A. 1993. Variation among maize (*Zea mays* L.) accessions of Bendel State, Nigeria. Multivariate analysis of agronomic data. Euphytica 66:65-71.
- Almekinders, C.J., Louwaars, N.P., Bruijn, G.H. 1994. Local seed systems and their importance for an improved seed supply in developing countries. Euphytica 78:207-216.
- Almekinders, C.J.M. y Elings, A. 2001. Collaboration of farmers and breeders: Participatory crop improvement in perspective. Euphytica 122:425-438.
- Alrefai, R., Berke, T.G., Rocheford, T.R. 1995. Quantitative trait locus analysis of fatty acid concentrations in maize. Genome 38:894-901.
- Altieri, M. y Nicholls, C. I. 2000. Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. México.
- Álvarez, A. y Lasa, J.M. 1987. Asturian populations of maize. I. Morphological-vegetative description and variability. Aula Dei 18(3-4):177-186.
- Alvarez, A. 2006. Aplicaciones del maíz en la tecnología alimentaria y otras industrias. Molienda Húmeda y Molienda Seca. "En" Maíz y nutrición: Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. ILSI Argentina. Volumen II, octubre de 2006, p. 9-13.

- Álvarez Rodríguez, A. 1988. Evaluación de poblaciones de maíz grano (*Zea mays*, L.) de la Cornisa Cantábrica y estudio de sus relaciones. Tesis para acceder al título Doctor en Biología. Universidad de Barcelona. pp.248.
- Andrade, F. H., Cirilo, A.G., Uhart, S.A., Otegui, M.E. 1996. Ecofisiología del cultivo de maíz. Editorial La Barrosa. Balcarce. Buenos Aires. 292 págs.
- Andrade, F.H., Cirilo, A.G., Echarte, L. 2000. Factors affecting kernel number in maize. Chapter 3. In: Physiological bases for maize improvement. Otegui y Slafer (Eds), Food Products Press an Imprint of the Haworth Press, Inc. New York. Pag. 59-74.
- Andrade, F.H., Echarte, L., Rizzalli, R., Della Maggiora, A., Casanovas, M. 2002. Kernel number prediction in maize under nitrogen or water stress. *Crop Science* 42:1173-1179.
- Araujo, P. M. y Nass, L. L. 2002. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. *Scientia Agricola*, 59 (3):589-593.
- Atlin, G. N., Cooper, M., Bjørnstad, Å. 2001. A comparison of formal and participatory breeding approaches using selection theory. *Euphytica* 122:463–475.
- Aulicino, M.B. y Arturi, M.J. 2002. Phenotypic diversity in Argentinian populations of *Bromuscatharticus* (Poaceae). Genetic and environmental components of quantitative traits. *New Zealand Journal of Botany* 40:223-234.
- Babu, R., Nair, S., Prasanna, B., Gupta, H. 2004. Integrating marker assisted selection in crop breeding-prospects and challenges. *Current Science* 87:607-619.
- Babu, R., Nair, S., Kumar, A., Venkatesh, S., Sekhar, J., Singh, N., Srinivasan, G., Gupta, H. 2005. Two-generation marker-aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize (QPM). *Theoretical and Applied Genetics*.111:888-897.
- Bantte, K. y Prassana, B.M. 2003. Simple sequence repeat polymorphism in Quality protein maize (QPM) lines. *Euphytica* 129:337-344.
- Bellon, M.R., Berthaud, J., Smail, M., Aguirre, J.A., Taba, S., Aragon, F., Diaz, J., Castro, H. 2002. Participatory landrace selection for on-farm conservation: An example from the Central Valleys of Oaxaca, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50:401-416.
- Bellon, M.R. y Hellin, J. 2011. Planting hybrids, keeping landraces: agricultural modernization and tradition among small-scale maize farmers in Chiapas, Mexico. *World Development* 39(8):1434-1443.
- Berardo, N., Mazzinelli, G., Valoti, P., Lagana, P., Redaelli, R. 2009. Characterization of maize germplasm for the chemical composition of the grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:2378-2384.

- Berretta, A., Albín, A., Díaz, R., Gómez, P. 2010. Recursos Fitogenéticos: Desafíos y oportunidades. En: Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR, IICA. Montevideo.172 pp.
- Bhatnagar, S. 2004. Phenotypic and genotypic characterization of high lysine maize. Tesis para acceder al Grado de Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 183pp.
- Bilgin, O., Orak, H.H., Korkut, K.Z., Baóer, E., Orak, A., Balkan, A. 2010. Interrelationships among some Quality characteristics in Dent Corn (*Zea mays L.*). Cereal Research Communications 38(2):233–242.
- Bonámico, N., Aiassa, J., Ibañez, M., Di Renzo, M., Díaz, D., Salerno, J. 2004. Caracterización y clasificación de híbridos simples de maíz con marcadores SSR. RIA 33(2):129-144.
- Botstein, D., White, R.L., Skolniek, M., Davis, R.V. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal Human Genetic, Boston 32:314-331.
- Bracco, M., Lia, V.V., Gottlieb, A.M., Cámara, H.J., Poggio, L. 2009. Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. Genetica, 135:39–49
- Bracco, M. 2012. Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino. Tesis para acceder al título de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires pp.140.
- Bracco, M., Lia, V.V., Hernández, J.C., Poggio, L., Gottlieb, A.M. 2012. Genetic diversity of maize landraces from lowland and highland agro-ecosystems of Southern South America: implications for the conservation of native resources. Annals of Applied Biology 160:308-321.
- Bracco, M., Lía, V.V., Poggio, L., Cámara Hernández, J.A., Gottlieb, A.M. 2013. Caracterización genética de razas de maíz autóctonas de Misiones, Argentina. Revista Ciencia y Tecnología 20:52-60.
- 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 Science 45:1603-1609.
- Brandolini, A. y Brandolini, A. 2001. Classification of Italian maize (*Zea mays L.*) germplasm. Plant Genetic Resource Newsletter 126:1-11.

- Bravo, A. L. 2004. El maíz en Ecuador. En: Maíz sustento y culturas en América Latina. Los impactos negativos de la globalización. Redes Amigos de la Tierra Uruguay & Biodiversidad Sustento y Culturas. pp. 37-60.
- Brown, A.H.D. 2008. Indicators of genetic diversity, genetic erosion and genetic vulnerability for plant genetic resources for food and agriculture. FAO. 26 pp.
- Brush, S. B. y Meng, E. 1998. Farmers' valuation and conservation of crop genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45:139–150.
- Byerlee, D. 1996. Modern varieties, productivity, and sustainability: recent experience and emerging challenges. *World Development* 24 (4):697-718.
- Cámara Hernández, J. y Miente Alzogaray, A.M. 2003. Caracterización y clasificación en razas, de maíces nativos de la Provincia de Misiones, Argentina. In *Proceedings of the IV Simposio de recursos genéticos para América Latina y el Caribe, Mar del Plata, Argentina*.
- Cámara Hernández, J. y Arancibia de Cabezas, D. 2007. Maíces andinos y sus usos en la quebrada de Humahuaca y regiones vecinas. Buenos Aires. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. pp. 60.
- Cámara Hernández, J., Miente Alzogaray, A.M, Bellón, R., Galmarini, A.J. 2012. Razas de maíz nativas de la Argentina. Ed. Fac. Agronomía, UBA, vol 1, 174 pp.
- Cantarero, M.G., Luque, S.F., Rubiolo, O.J. 2000. Efecto de la época de siembra y la densidad de plantas sobre el número de granos y el rendimiento de un híbrido de maíz en la región central de Córdoba (Argentina). *Agriscientia* 23:3-10.
- Cárcova, J., Borrás, L., Otegui, M. E. 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en maíz. Capítulo 8. In: *Producción de Granos. Bases funcionales para su manejo*. Satorre *et al.* (Eds), Edit. Facultad de Agronomía-UBA. Pág. 132-163.
- Carvalho, V. P., Ruas, C. F., Ferreira, J. M., Moreira, R. M. P., Ruas, P. M. 2004. Genetic diversity among maize (*Zea mays L.*) landraces assessed by RAPD Markers. *Genetics and Molecular Biology*, 27 (2):228-236.
- Ceccarelli, S., Grando, S., Booth, R. H. 1996. International breeding programmes and resource-poor farmers: crop improvement in difficult environments. In: Eyzaguirre P, Iwanaga M (Eds) *Participatory plant breeding. Proceeding of a workshop on participatory plant breeding*, pp 99-116. International Plant Genetic Resource Institute (IPGRI), Rome, Italy.
- Ceccarelli, S. y Grando, S. 2003. Decentralized-participatory plant breeding Tuberosa R., Phillips R.L., Gale M. (eds.), *Proceedings of the International Congress "In the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution"*, 27-31 May 2003, Bologna, Italy.
- Chahal, G. S y Gosal, S. S. 2002. Principles and Procedures of Plant Breeding. Biotechnological and Conventional Approaches. Narosa Publishing House. Chapter 4.

- Chander, S., Meng, Y., Zhang, Y., Yan, J., Li, J. 2008. Comparison of nutritional traits variability in selected eighty-seven Inbreds from Chinese maize (*Zea mays L.*) Germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:6506–6511.
- Chaudhary, D.P., Kumar, S., Yadav, O.P. 2014. Nutritive value of maize: improvements, applications and constraints. In: Chaudhary DP, Kumar S, Langyan, S (eds) *Maize: Nutrition dynamics and novel uses*. Springer. New Delhi, India.
- CIMMYT/IBPGRI. 1991. *Descriptores de maíz*. México-Roma. 88pp.
- Cirilo, A.G. y Andrade, F.H. 1994. Sowing date and maize productivity: II. Kernel number determination. *Crop Science* 34(4):1044-1046.
- Clark, D., Dudley, J.W., Rocheford, T.R., Ledeaux, J.R. 2006. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 10 generation of the cross of generations 70 IHO x ILO. *Crop Science* 46:807-819.
- Clausen, A.M., Ferrer, M.E., Formica, M.B. 2008. Situación de los Recursos Fitogenéticos en la Argentina. II Informe Nacional 1996-2006. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. pp. 57.
- Coimbra, R.R., Miranda, G.V., Cruz, C.D., Silva, D.J.H., Vilela, R.A. 2009. Development of a Brazilian maize core collection. *Genetics and Molecular Biology* 32(3):538-545.
- Cooper, M. y DeLacy, I.H. 1994. Relationships among analytical methods used to study genotypic variation and genotype-by-environment interaction in plant breeding multi-environment experiments. *Theoretical and Applied Genetics* 88:561-572.
- Corcuera, V. R. 2012. Desarrollo y evaluación de nuevo germoplasma de maíz (*Zea mays L.*) para uso especial en argentina. Tesis presentada para optar al Grado de Doctor Ingeniero Agrónomo. Departamento de Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Valencia. 394 pp.
- Corn Refiners Association. 2006. *Corn Oil*, 5th ed., Corn Refiners Assoc. Inc., Wash. (DC), USA, 24 págs.
- Costa Tártara, S.M., Curti, R.N., Bramardi, S.J., Manifesto, M.M., Bertero, D.H. 2011. Análisis simultáneo de variables morfológicas cuantitativas y marcadores moleculares para la caracterización de accesiones nativas de Quínoa del Noroeste Argentino. En: XVI Reunión Científica del GAB. Octubre de 2011. Salta, Argentina.
- Coutiño Estrada, B., Ortega Corona, A., Vidal Martínez, V.A., Sánchez Grajalez, G., García Acuña, S.I. 2008. Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(3):5-8.
- Dang, N.C. 2010. Improvement of protein quality in waxy maize (*Zea mays L.*) by doubled haploid and marker assisted selection. Tesis para acceder al título de Doctor of Sciences. Universidad ETH Zurich, Zurich. 115pp.

- Danson, J., Mbogori, M., Kimani, M., Lagat, M., Kuria, A., Diallo, A. 2006. Marker assisted introgression of opaque2 gene into herbicide resistant elite maize inbred lines. *African Journal of Biotechnology* 5(24):2417-2422.
- Defacio, R. A., Hourquescos, M. J., Bramardi, S.J., Ferrer, M. E. 2005. Estudio de variabilidad en variedades nativas de maíz. V SIRGEALC. Montevideo. 22 – 24 de noviembre de 2005.
- Defacio, R.A., Paz, N.M., Bramardi, S.J., Ferrer M.E., Schlatter, A.R 2006. Relación entre datos agro-morfológicos y moleculares en 10 poblaciones locales de maíz. En: XXXII Jornadas Internacionales de Estadística. 10 – 13 de octubre. Rosario, Argentina.
- Defacio, R.A., Paz, N.M., Scropanich, F.M., Bramardi, S.J., Schlatter, A.R., Ferrer, M.E. 2007. Análisis de 40 poblaciones locales de maíz (*Zea mays*) de la raza Cristalino Colorado en base a marcadores agro-morfológicos y moleculares. En: XXXVI Congreso Argentino de Genética. 23 – 26 de septiembre. Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- 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 para acceder al título de Master. Universidad Nacional del Rosario. pp.103.
- De la Vega, A.J., Chapman, S.C., 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.
- Delucchi, C., Eyherabide, G.H., Lorea, R.D., Presello, D.A., Otegui, M.E., López, C.G. 2012. Classification of argentine maize landraces in heterotic groups. *Maydica* 57:26-33.
- Depetris, G.J.y Santini, F.J. 2006. Particularidades nutricionales del grano de maíz en la alimentación de bovinos de carne. En: Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal, Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales 2:28-31.
- Díaz Coronel, G. T., Sabando Ávila, F. A., Zambrano Montes, S., Vásquez Montúfar, G. H. 2009. Evaluación productiva y de calidad del grano de cinco híbridos de maíz (*Zea mays L.*) en dos localidades de la provincia de Los Ríos. *Ciencia y Tecnología* 3:15-23.
- Di Rienzo, J.A., Guzman, A.W., Casanoves, F. 2002. A multiple-comparison method base on the distribution of the root node distance of a binary tree. *American Statistical Association and the International Biometric Society. Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics* 7(2):129-142.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2012. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Dombrink-Kurtzman, M. A. y Bietz, J. A. 1993. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. *Cereal Chemistry* 70:105-108.

- Dombink-Kurtzman, M.A. y Knutson, C.A. 1997. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. *Cereal Chemistry* 74(6):776-780.
- Dorsey-Redding, C., Hurburgh, C.R., Johnson, L.A., Fox, S.R. 1991. Relationships among maize quality factors. *Cereal Chemistry* 68(6):602-605.
- Dreccer, M., Ruiz, R., Maddonni, G., Satorre, E. 2003. Bases ecofisiológicas de la nutrición en los cultivos de grano. Pp.481-487 en Satorre, F., BenechArnold, R., Slafer, G., De la Fuente, E., Miralles, D., Otegui, M., Savin, R. Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires.
- Dreher, K., Khairallah, J., Ribaut, J. M., Morris, M. 2003. Money matters (I): costs of field and laboratory procedures associated with conventional and marker-assisted maize breeding at CIMMYT. *Molecular Breeding* 11:221-234.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28(3):350-356.
- Dudley, J. W. 2007. From means to QTL: The Illinois long-term selection experiment as a case of study in Quantitative Genetics. *Crop Science* 47:20-31.
- Dullo, M.E., Hunter, D., Borelli, T. 2010. Ex Situ and In Situ Conservation of Agricultural biodiversity: mayor advances and research needs. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38(2):123-135.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M., Brumm, T.J. 1995a. Fatty acid composition of oil from adapted, Elite Corn Breeding Materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 72(9):981-987.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M. 1995b. Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 72(9):989-993.
- Duvick, S.A., Pollak, L.M., Edwards, J.W., White, P.J. 2006. Altering the fatty acid composition of corn belt corn through *Tripsacum* introgression. *Maydica* 51:409-416.
- Dwyer, L.M. y Stewart, D.W. 1986. Leaf area development in field-grown maize. *Agronomy Journal* 78:334-343.
- Eberhart, S.A. y Russell, W.A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* 6:36-40.
- Edmeades, G.O., Bolaños, J., Chapman, S.C. 1997a. Value of secondary traits in selecting for drought tolerance in tropical maize. In: Developing drought and low N tolerant maize. Proceedings of a Symposium, March 25-29, 1996, CIMMYT, El Batán, Mexico. pp. 224-234.

- Edmeades, G.O., Bänziger, M., Pandey, S. 1997b. Recurrent selection under managed drought stress improves grain yields in tropical maize. In: Developing drought and low N tolerant maize. Proceedings of a Symposium, March 25-29, 1996, CIMMYT, El Batán, Mexico. pp. 415-425.
- Egesel, C.O., Kahriman, F., Gül, M.K. 2011. Discrimination of maize inbreds for kernel quality traits and fatty acid composition by a multivariate technique. *Acta Scientiarum Agronomy* 33(4):613-620.
- Enoki, H., Sato, H., Koinuma, K. 2002. SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan. *Theoretical and Applied Genetics* 104:1270-1277.
- Esquinas Alcazar, J. 1987. Recursos genéticos vegetales: Bases para la seguridad alimentaria. *Ceres* 118 (20):39-45.
- Eyherabide, 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.
- Eyherabide, G. 2004. Incorporación de germoplasma indígena de maíz en materiales elite. *IDIA XXI*, N° 6:105-110.
- Eyherabide, G. H., Percibaldi, N. M., Borrás, F. S., Presello, D.A. 2005. Mejoramiento de la calidad nutricional del aceite de maíz mediante el desarrollo y selección recurrente intrapoblacional. *Actas VIII Congreso Nacional de Maíz*, 336-339.
- Falconer, D. S. 1983. *Introducción a la Genética Cuantitativa*. CIA. Editorial Continental S.A. Mexico.
- FAO. 1993. *Maize in human nutrition*. 168 págs. Roma, Italia.
- FAO. 1996. Plan de acción mundial para la conservación y utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura y la declaración de Leipzig. Cuarta Conferencia sobre los Recursos Fitogenéticos. Leipzig. Alemania. 17-23 de junio de 1996. 64 p.
- FAOSTAT. 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved January 30, 2015. <http://faostat3.fao.org>
- Fehr, W.R. 1987. *Principles of cultivar development. Theory and technique*. 536 pp.
- Fernández, L., Ortiz, C.R., León, N. 2003. Fitomejoramiento participativo del maíz (*Zea mays L.*). Una experiencia en La Habana. *Cultivos Tropicales* 24(4):77-83.
- Ferrer, M. E., Safont Lis, J., Solari, L. R. 1991. Banco activo de germoplasma de maíz de pergamino. II Simposio Latinoamericano de Recursos Genéticos de Especies Hortícolas. Mar del Plata.
- Ferrer, M. E. y Clausen, A. M. 2001. Variabilidad genética en los recursos vegetales de importancia para la agricultura del Cono Sur. P: 43 - 57. En *Estrategia en*

recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. (Documento). Ana Berretta y Mercedes Rivas (Coord.). PROCISUR. Montevideo, Uruguay. pp. 142.

- Ferrer, M. E. 2009. El aporte de las razas locales en el mejoramiento genético de maíz en Latinoamérica y el Caribe. Banco de germoplasma. En VII Simposio de Recursos Genéticos para America Latina y el Caribe. Pucón, Chile. Del 28 al 30 de octubre de 2009.
- Ferro, E. M, Ríos, H., Chirino, E., Márquez, M., Valdés, R. J., Suárez, Y., Alfaro, F. 2008. Entendiendo el sistema informal de semilla de maíz Cubano. La selección de variedades de maíz (*Zea mays*, *Lin*) por campesinos de La Palma, Pinar del Río. Cultivos Tropicales 29(1):61-68.
- Flint-García, S., Bodnar, A.L., Scott, M.P. 2009. Wide variability in kernel composition, seed characteristics, and zein profiles among diverse maize inbreds, landraces, and teosinte. Theoretical and Applied Genetics 119:1129-1142.
- Frenoux, J-M.R., Prost, E.D., Belleville, J.L., Prost, J.L. 2001. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. The Journal of Nutrition 131:39-45.
- García, F.O. 2004. Agricultura sustentable y materia orgánica del suelo: siembra directa, rotaciones y fertilidad. III Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Santa Cruz de la Sierra. Bolivia.
- Gear, J. R. E. 2006. El cultivo del maíz en Argentina. “En” Maíz y nutrición: Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. ILSI Argentina. Volumen II, octubre de 2006, p. 4-8.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J-F., Culioli, J. 2001. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. Reproduction Nutrition Development 41:1-26.
- Girardin, P., Tollenaar, M., Deltour, A., Muldoon, J. 1987. Temporary N starvation in maize (*Zea mays* L.): effects on development, dry matter accumulation and grain yield. Agronomie 7:289-296.
- Golluscio, L.A. 2008. Los pueblos indígenas que viven en Argentina. Informe de actualización del año 2002. Serie de documentos de capacitación N° 5. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. 1° Edición electrónica. Buenos Aires.
- Gonzalez Huerta, A, Sahagún Castellanos, J., Pérez López, D. J., Domínguez López, A., Serrato Cuevas, R., Landeros Flores, V., Dorantes Coronado, E. 2006. Diversidad fenotípica del maíz cacahuacintle en el valle de Toluca, México. Revista Fitotecnia Mexicana 29 (3):255-261.
- González Huerta, A., Vázquez García, L.M., Sahún Castellanos, J., Rodríguez Pérez, J.E. 2008. Diversidad fenotípica de variedades e híbridos de maíz en el Valle Toluca-Atacomulco, México. Fitotecnia Mexicana 31(1):67-76.

- Goodman, M.M. y Paterniani, E. 1969. The races of maize. III. Choices of appropriate characters for racial classification. *Economic Botany* 23(3):265-273.
- Gouesnard, B., Dallard, J., Panouillé, A., Boyat, A. 1997. Classification of French maize populations based on morphological traits. *Agronomie* 17:491-498.
- Gouesnard, B., Dallard, J., Bertin, P., Charcosset, A. 2005. European maize landraces: Genetic diversity, core collection definition and methodology of use. *Maydica* 50:225-234.
- Govindaraj, M., Vetriventhan, M., Srinivasan, M. 2015. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*. Volume 2015, Article ID 431487. 14 pp.
- Granados Sánchez, D., López Ríos, G.F., Hernández García, M.A. 2009. Recursos genéticos, biotecnología y propiedad intelectual. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15(2):127-140.
- Grandón, N.G., Alarcón, Y., Moreno, M.V., Arolfo, V., Orodizzi, A., Basigalup, D.H., Gieco, J.O., Bruno, C. 2013. Genetic diversity among alfalfa genotypes (*Medicago sativa* L.) of non-dormant cultivars using SSR markers and agronomic traits. *Revista FCA UNCUYO* 45(2):181-195.
- Guo, Y., Yang, X.; Chander, S., Yan, J., Zhang, J., Song, T., Li, J. 2013. Identification of unconditional and conditional QTL for oil, protein and starch content in maize. *The Crop Journal* 1:34-42.
- Gutiérrez-Rojas, A., Scott, M.P., Leyva, O.R., Menz, M., Betrán, J. 2008. Phenotypic characterization of quality protein maize endosperm modification and amino acid contents in a segregating recombinant population. *Crop Science* 48:1714-1722.
- Hammer, K. y Teklu, Y. 2008. Plant genetic resources: selected issues from genetic erosion to genetic engineering. *Journal of agriculture and rural development in the tropics and subtropics*. 109 (1):15-50.
- Hartings, H., Maddaloni, M., Lazzaroni, N., Di Fonzo, N., Motto, M., Salamini, F., Thompson, R. 1989. The O2 gene which regulates zein deposition in maize endosperm encodes a protein with structural homologies to transcriptional activators. *European Molecular Biology Organization Journal* 8(10):2795-2801.
- Hartings, H., Fracassetti, M., Motto, M. 2012. Genetic enhancement of grain quality-related traits in maize, *Transgenic Plants-Advances and limitations*. Ozden Çiftçi (Ed.). Available from: <http://www.intechopen.com/books/transgenic-plants-advances-and-limitations/genetic-enhancement-of-grain-quality-related-traits-in-maize>
- Heiniger, R.W. y Dunphy, E.J. 2001. High Oil Corn Production Q&A. NC State University. Available from: http://www.ces.ncsu.edu/plymouth/cropsci/docs/high_oil_corn97.html.

- Henry, A.M. y Damerval, C. 1997. High rates of polymorphism and recombination at the Opaque-2 locus in cultivated maize. *Molecular and General Genetics* 256:147-157.
- Henry, A.M., Manicacci, D., Falque, M., Damerval, C. 2005. Molecular evolution of the Opaque-2 gene in *Zea mays* L. *Journal of Molecular Evolution* 61:551-558.
- Herrera Cabrera, B.E., Castillo González, F., Sánchez González, J.J., Ortega Paczka, R., Goodman, M.M. 2000. Morphological traits to assess diversity among maize populations in a region: Chalqueño landrace case. *Fitotecnia Mexicana* 23:335-354.
- Hidalgo, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. En: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín técnico N°: 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. pp. 89.
- Huang S., Frizzi, A., Florida, C.A., Kruger, D.E., Luethy, M.H. 2006. High lysine and high triptophan transgenic maize resulting from the reduction of both 19- and 22-kD α -zeins. *Plant Molecular Biology* 61:525-535.
- Ignjatovic-Micic, D., Markovic, K., Ristic, D., Mladenovic-Drinic, S., Stankovic, S., Lazic-Jancic, V., Denic, M. 2009. Variability analysis of normal and opaque2 maize inbred lines. *Genetika* 41(1):81-93.
- Ignjatovic-Micic, D., Kostadinovic, M., Andjelkovic, V., Vancetovic, J. 2014. High grain quality accessions within a maize drought tolerant core collection. *Scientia Agricola* 71(5):345-355.
- ILSI Argentina. 2006. Perfil de la composición de la producción del maíz cultivado en la Argentina. En: Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal, Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales 2:53-61.
- ILSI Crop Composition Database Version 5.0. www.cropcomposition.org.
- INDES. 2006. Enfoque integral de chacras. Documento de Sistematización 2006. Instituto de Desarrollo Social y Promoción Humana. Posadas. Misiones.
- INDES. 2008. Registro de experiencias, rescate, identificación y mejoramiento de variedades de maíces locales. Instituto de Desarrollo Social y Promoción Humana. Posadas. Misiones.
- INTA. 2006. La situación en Misiones. Plan Tecnológico Regional 2006-2008. Centro Regional Misiones.
- Jaradat, A.A. y Goldstein, W. 2013. Diversity of maize kernels from a Breeding Program for protein quality: I. Physical, biochemical, nutrient, and color traits. *Crop. Science* 53:956-976.
- Jarvis, D. y Hodgkin, T. 2000. Farmers decision making and genetic diversity: linking multidisciplinary research to implementation on-farm. In: *Genes in the field*.

On-farm conservation of crop diversity. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Jarvis, D.I., Myer, L., Klemick, H., Guarino, L., Smale, M., Brown, A.H.D., Sadiki, M., Sthapit, B., Hodgkin, T. 2000. A training guide for In Situ Conservation On-farm. Version 1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp. 190.
- Jellum, M. D. 1970. Plant introductions of maize as a source of oil with unusual fatty acid composition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 18:365-370.
- Jiang, H. Y., Zhush, Y. J., Wei, L. M., Dai, J. R., Song, T. M., Yan, Y. L., Chen, S. J. 2007. Analysis of protein, starch and oil content of single intact kernels by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in maize (*Zea mays L.*). *Plant Breeding* 126:492-497.
- Jugenheimer, R.W. 1961. Breeding for oil and protein content in maize. *Euphytica* 10:152-156.
- Kimura, M. y Crow, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-738.
- Kiniry, J.R. y Ritchie, J.T. 1985. Shade-sensitive interval of kernel number of maize. *Agronomy Journal* 77:711-715.
- Kleinhofs, A., Kilian, A., Saghai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Hayes, P., Chen, F.Q., Lapitan, N., Fenwich, A., Blake, T.K., Kanazin, V., Ananiev, E., Dahleen, L., Kudrna, D., Bollinger, J., Knapp, S.J., Liu, B., Sorrells, M., Heun, M., Franckowiak, J.D., Hoffman, D., Skadsen, R., y Steffenson, B.J. 1993. A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theoretical and Applied Genetics* 86:705-712.
- Knutson, C. A. 1986. A simplified colorimetric procedure for determination of amylose in maize starches. *Cereal Chemistry* 63(2):89-92.
- Kostadinovic, M., Ignjatovic-Micic, D., Stankovic, K., Vancetovic, J., Ristic, D., Mladenovic Drinic, S. 2014. Genetic and biochemical characterization of parental inbred lines in marker assisted selection for Quality Protein Maize. *Genetika* 46(2):579-590.
- Kris-Etherton, P.M. 1999. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Journal of American Heart Association*. 100:1253-1258.
- Kriz, A. 2009. Enhancement of amino acid availability in corn grain. Molecular genetic approaches to maize improvement. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 63:79-89.
- Lambert, R.T. 2001. High-oil corn hybrids. In: Hallauer A.R. (Ed.), *Specialty corns*. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.

- Lee, K.M., Herrman, T.J., Lingenfelter, J., Jackso, D.S. 2005. Classification and prediction of maize hardness-associated properties using multivariate statistical analyses. *Journal of Cereal Science* 4:85–93.
- Lee, E.A. 2009. Maize for oil. In: Vollmann J. y Rajcan I. *Oil Crops*. Springer. New York. pp. 493-505.
- Li, J., Berke, T. G., Glover, D. V. 1994. Variation for thermal properties of starch in tropical maize germplasm. *Cereal Chemistry* 71:87-90.
- Li, Y., Shi, Y., Cao, Y., Wang, T. 2004. Establishment of a core collection for maize germplasm preserved in Chinese National Genebank using geographic distribution and characterization data. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:845-852.
- Lobo Arias, M. y Medina Cano, C. I. 2009. Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 10(1):33-42.
- Lohmer, S., Maddaloni, M., Motto, M., Di Fonzo, N., Hartings, H., Salamini, F., Thompson, R.D. 1991. The maize regulatory locus Opaque-2 encodes a DNA-binding protein which activates the transcription of the b-32 gene. *The EMBO Journal* 10(3):617-624.
- 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: relevans in selection protocols. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22:827-833.
- López, C.G., Eyherabide, 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 Díaz, J. E. 2009. Estudio de los recursos fitogenéticos del complejo Festuca – Lolium. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. pp.159.
- Lorea, R., Eyherabide, G., Borrás, F., Percibaldi, M., Robutti, J., López, C., Pedrol, H., Castellarín, J., Delucchi, C., Presello, D. 2007. Argentinian Maize Landraces (*Zea mays*, L) as Genetic Source for Improving Physical and Chemical Composition of Grain. 1er. Conferencia latinoamericana de la ICC Rosario- Setiembre-2007.
- Louette, D. 1994. Intercambio de semillas entre agricultores y flujo genético entre variedades de maíz en sistemas agrícolas tradicionales. Instituto Manantlan de Ecología y Conservación de la Biodiversidad. Universidad de Guadalupe, México. pp. 60-71.
- Louette, D. y Smale, M. 2000. Farmer's seed selection practices and traditional maize varieties in Cuzalapa, Mexico. *Euphytica* 113:25-41.

- Lucchin, M., Barcaccia, G., 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., Kugler, W., Godoy, E., Mazzoni, L. 1964. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, dirigida por L. Parodi. Maíz. p. 553-589.
- Maddaloni, M., Di Fonzo, N., Hartings, H., Lazzaroni, N., Salamini, F., Thompson, R., Motto, M. 1989. The sequence of the zein regulatory gene opaque-w (o2) of *Zea mays*. *Nucleic Acids Research*. 17:(18):7532.
- Maddaloni, M., Donini, G., Balconi, C., Rizzi, E., Gallusci, P., Forlani, F., Lohmer, S., Thompson, R. 1996. The transcriptional activator Opaque-2 controls the expression of a cytosolic form of pyruvate orthophosphate dikinase-1 in maize endosperms. *Molecular and General Genetics* 250:647-657.
- Manicacci, D., Camus-Kulandaivelu, L., Fourmann, M., Arar, C., Barrault, S., Rousselet, A., Feminias, N., Consoli, L., Francés, L., Méchin, V., Murigneux, A., Prioul, J:L., Charcosset, A., Damerval, C. 2009. Epistatic interactions between Opaque2 transcriptional activator and its target Gene CyPPDK1 control kernel trait variation in Maize. *Plant Physiology* 150:506-520.
- Mariotti, J.A. 1994. Fundamentos de Genética Biométrica. Aplicaciones al mejoramiento genético vegetal. Secretaría general de la Organización de los Estados Americanos. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. Serie de Biología. Monografía nº 32. p. 152.
- Martín de Portela, M. 2006. Componentes nutricionales del grano de maíz. En: Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal, Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales 2:44-50.
- Martínez, M., Ríos, H., Miranda, S., Moreno, I., Acosta, R., Farrera, A., Velazco, J. 2006. Caracterización de la diversidad y selección participativa de prospecciones de maíz en Chiapas, México. *Cultivos Tropicales* 27(1):55-62.
- Martínez, E.H., Fuentes, J.P., Acevedo, E.H. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Journal of soil Science and Plant Nutrition* 8(1):68-96.
- Martínez, M.; Palacios, N.; Ortiz, R. 2009. Caracterización nutricional del grano de 50 accesiones de maíz cubano. *Cultivos Tropicales* 30(2):80-88.
- Martínez, M., Ortiz, R., Ríos, H., Acosta, R. 2010. Análisis de las correlaciones en poblaciones cubanas de maíz. *Cultivos Tropicales* 10 (2):82-91.
- Martínez Cruz, M. 2011. Caracterización morfoagronómica y nutricional de una colección cubana de maíz (*Zea Mays* L.). Tesis para optar al Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Mayabeque. Cuba. pp. 91.
- Mason, S.C. y D'Croz-Mason, N.E. 2002 Agronomic Practices Influence Maize Grain Quality. *Journal of Crop Production* 5:(1-2):75-91

- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M.M., Sanchez, J., Buckler, E., Doebley, J. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(9):6080-6084.
- Maxted, N., Ford-Lloyd, B., Hawkes, J.G. 1997. Complementary conservation strategies. In: Maxted N., Ford-Lloyd B., Hawkes J.C. (Eds.). *Plant Genetic Conservation: The in situ Approach*. Chapman & Hall. London. Pp.15-40.
- Maxted, N. 2001. Ex situ, In situ conservation. *Encyclopedia of Biodiversity* 2:683-695.
- Melchiorre, P., Bartoloni, N., Cámara Hernández, J. 2006. Phenetic relationships among native races of maize (*Zea mays* ssp. *mays*) from North-eastern Argentina (Misiones). *Journal of Genetics and Breeding*, 60:173–182.
- Méndez Montealvo, G., Solorza-Feria, J., Velázquez del Valle, M., Gómez-Montiel, N., Paredes-López, O., Bello-Pérez, L.A. 2005. Chemical composition and calorimetric characterization of Hybrids and varieties of maize cultivated in México. *Agrociencia* 39:267-274.
- Mercer, K. L. y Perales, H. R. 2010. Evolutionary response of landraces to climate change in centers of crop Diversity. *Evolutionary Applications*: 1752-4571.
- Miño, G. y Scalerandi, V. 2005. Relevamiento e identificación de actores sociales y proyectos en marcha (TDR 1). Informe Final. Proyecto de Ordenamiento Territorial de la Provincia de Misiones Convenio AECI-APN-Gobierno de Misiones. Puerto Iguazú. Misiones.
- Misevic, D. y Alexander, D.E. 1989. Twenty-four cycles of phenotypic recurrent selection for percent oil in maize. I. Per se and test-cross performance. *Crop Science* 29:320-324.
- Mittelman, A., Miranda Filho, J.B., Mello Monteiro de Lima, G.J., Hara-Klein, C., Tanaka, R.T. 2003. Potential of the ESA23B maize population for protein and oil content improvement. *Scientia Agrícola* 60(2):319-327.
- Mittelman, A., Miranda Filho, J., Nass, L.L., Melo Monteiro Lima, G.J., Hara-Klein, C., Machado da Silva, R. 2011. Quantitative variation for grain quality in Brazilian maize populations. *Scientia Agrícola* 68(1):50-56.
- Mohammadi, S.A. y Prassanna, B.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-Salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43:1235-1248.
- Montecinos, C. y Altieri, M. 1992. Situación y tendencias de la conservación de recursos genéticos a nivel local en América Latina. *Agroecología y Desarrollo*. Número especial 2/3. Julio 1992.
- Moraes, L. y Vartorelli, F. 2006. Particularidades nutricionales del grano de maíz en la alimentación de aves. En: *Maíz y Nutrición*. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales 2:39-41.

- Morales, M., Decker, V., Ornella, L. 2010. Analysis of genetic diversity in Argentinian heterotic maize populations using molecular markers. *Ciencia e Investigación Agraria* 37(1):151-160.
- Motto, M., Hartings, H., Fracassetti, M., Consonni, G. 2011. Grain quality-related traits in maize: gene identification and exploitation. *Maydica* 56:291-314.
- Moura Duarte, J. 2003. Conversión de linajes elites en maíz de alta calidad proteica (QPM). Tesis de doctorado. UFLA. pp.129.
- Mwololo, B.M. 2010. The role of farmers in biodiversity conservation of maize landraces through farming systems in Kenya. *Journal of developments in sustainable agriculture* 5:155-177.
- Nagy, E., Timar, I., Hegyi, Z., Spitzkó, T., Marton, L.C. 2009. SSR markers as tools in maize breeding for high starch content. *Maydica* 54:253-257.
- Narváez González, E. D., Figueroa Cárdenas, J. D., Taba, S.; Castaño Tostado, E., Martínez Peniche, R. A. 2007. Efecto del tamaño del gránulo de almidón de maíz en sus propiedades térmicas y de pastificado. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(3):269-277.
- Nass, L. L., Pellicano, I. J., Candeira Valois, A. C. 1993. Utilization of genetic resources for maize and soybean breeding in Brazil. *Brazilian Journal of Genetics* 16(4):983-988.
- Nass, L.L. y Coors, J.G. 2003. Potential of exotic x adapted maize germplasm for silage. *Maydica* 48:197-206.
- National Academy of Sciences. 1993. Sustainable agriculture and the environment in the humid tropics. National Academy Press. Washington, D.C. 720 p.
- N'Da, H.A., Akanvou, L., Akanvou, R., Zorobi, A.I. 2014. Évaluation de la diversité agro-morphologique des accessions de maïs (*Zea mays* L.) collectées en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences* 20(3):3144-3158.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 70:3321-3323.
- Nguyen, T.H., Nguyen, T.H., Nguyen, V.L., Bui, M.C. 2012. The application of SSR molecular indicator to assess the purity and genetic diversity of waxy corn inbred lines. *International Society for the Southeast Asian Agricultural Sciences* 18(2):45-54.
- Niba, L.L. 2005. Carbohydrates: Starch. In: Hui Y.H. Handbook of food science, technology, and engineering. Taylor & Francis, 4th edition, London.
- Nikhou, F., Ebrahimi, A., Shiri, M. 2013. Genetic diversity assessment among maize hybrids with using SSR markers. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences* 3:3831-3834.

- Okumus, A. 2007. Genetic Variation and Relationship Between Turkish Flint Maize Landraces by RAPD Markers. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 2(2):49-53.
- Olinuk, J.A., Temchuk, M.C., Pedemonte, R. 2003. Contornos de lluvia para la provincia de Misiones Análisis Geoestadístico. INTA Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul. Informe técnico N° 85 ISSN 0326-0135 pp34.
- Olivera Carrión, M. 2006. Aporte nutricional de las principales formas de consumo del maíz en la alimentación humana. En: *Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales* 2:56-62.
- Osorno, J.M. y Carena, M.J. 2008. Creating groups of maize genetic diversity for grain quality: implications for breeding. *Maydica* 53:131-141.
- Otegui, M.E., Andrade, F.H., Suero, E.E. 1995. Growth, water use, and kernel abortion of maize subjected to drought at silking. *Field Crops Research* 40:87-94.
- Paliwal, R.L. 2001. Usos del maíz. En: *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal, Roma, Italia.*
- Paredes López, O., Guevara L.F., Bello Pérez, L. A. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92-93. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp 60-70.
- Paterniani, E. 2001. Agricultura sustentable nos trópicos. *Estudios avanzados* 15 (43):303-326.
- Piperno, D.R. y Flannery, K.V. 2001. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:2101-2103.
- Plan de Tecnología Regional 2009-2012. Centro Regional Misiones. INTA.
- Peakall, R. y Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288-295.
- Peñaloza, A., Valls, J.F.M., Rosso, B., Condón, F. 2010. Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. En: *Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR, IICA. Montevideo.* 172 pp.
- Perales, H., Brush, R.S.B., Qualset, C.O. 2000. Agronomic and economic competitiveness of maize landraces and in situ conservation in Mexico. In: Smale M. (Ed.). *Famers Gene Banks and Crop Breeding: Economic Analyses of diversity in Wheat Maize and Rice.* Pp.109-106.
- Percibaldi, N.M., Borrás, F.S., Robutti, J.L. 1997. Método rápido de extracción y metilación para determinar ácidos grasos en mejoramiento genético del aceite de maíz. VI Congreso Nacional de Maíz, Pergamino; Argentina. 12 al 14 de noviembre de 1997.

- Pezoa, A. 2001. Estrategias de Conservación de la Diversidad Biológica. En: Squeo F.A., Arancio G. y Gutiérrez J.R. (Eds.). Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile pp. 273–280.
- Pinnheiro de Carvalho, M.A.A., Teixeira Ganança, J.F., Abreu, I., Sousa, N.F., Marques dos Santos, T.M., Clemente Vieira, M.R., Motto, M. 2008. Evaluation of the maize (*Zea mays L.*) diversity on the Archipelago of Madeira. *Genetics. Resources and Crop Evolution* 55:221-233.
- Pinto, A.T.B., Pereira, J., Oliveira, T.R., Prestes, R.A., Rodrigues Mattiello, R., Mottin Demiate, I. 2009. Characterization of corn landraces planed grown in the Campos Gerais Region (Paraná, Brazil) for industrial utilization. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52:17-28.
- Pollak, L.M. y Scott, M.P. 2005. Breeding for grain quality traits. *Maydica* 50:247-257.
- 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 Eyherabide, 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.
- Pressoir, G. y Berthaud, J. 2004. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92:95-101.
- Prevosti, A. 1974. La distancia genética entre poblaciones. *Miscelánea Alcobé*. Universidad de Barcelona, España.
- PROSAP. 2009. Estrategia Provincial para el sector agroalimentario-EPESA. Programa de Servicios Agrícolas Provinciales (PROSAP). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- Rao, R.V. y Hodgkin, T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68:1-19.
- Reicosky, D.C. y Saxton, K.E. 2008. Los beneficios de la labranza cero. En: Baker y Saxton Ed. Siembra con labranza cero en la agricultura de conservación. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia.
- Ribaut, J.M. y Hoisington, D.A. 1998. Marker assisted selection: new tools and strategies. *Trends in Plant Sciences* 3:236–239
- Rice, E. 2004. Conservation and change: a comparison of in-situ and ex-situ conservation of Jala maize germplasm in Mexico. In partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. Cornell University. pp. 135.
- Rincón, A., Pérez, D., Romero A. S. 2006. Agricultura Tropical Sustentable y Biodiversidad. *Revista Digital CENIAP HOY* N° 11 Mayo-agosto, 2006. Maracay, Aragua, Venezuela.

- Ritchie, S. W., Hanway, J. J., Benson, G. O. 1993. How a corn plant develops. Iowa State University. Special Report no. 48, Ames, IA, USA.
- Ritchie, J.T. y Alagarswamy, G. 2003. Model concepts to express genetic differences in maize yield components. *Agronomy Journal* 95:4-9.
- Robinson, H. F., Comstock, R.E., Harey, P.H. 1949. Estimates of heritability and degree of dominance in corn. *Agronomy Journal* 41:353-359.
- Robutti, J. 1995. Maize kernel hardness estimation in breeding by Near-Infrared Transmission analysis. *Cereal Chemistry* 72(6):632-636.
- Robutti, J., Borrás, F., Ferrer, M., Percibaldi, M., Knutson, C.A. 2000. Evaluation of Quality factors in Argentine Maize races. *Cereal Chemistry* 77(1):24-26.
- Robutti, J. 2004. Calidad y usos del maíz. "En" *Idia XXI: Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario*. Buenos Aires: INTA, Año IV, n° 6 [jun. 2004], p. 100-104.
- Rodriguez, V.M., Butrón, A., Sandoya, G., Ordás, A., Revilla, P. 2007. Combining maize base germplasm for cold tolerance breeding. *Crop Science* 47(4):1467-1474.
- Rojas, W. 2003. Análisis multivariado en estudios de variabilidad genética. En: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín técnico N°: 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. pp. 89.
- Rooney, L.W., McDonough, C.M., Waniska, R.D. 2004. The Corn kernel. In: Smith C.W., Betrán J., Runge E.C.A. *Corn: Origin, history, technology and production*. Wiley Series in Crop Science. New Jersey.
- Ruiz de Galarreta, J.I y Álvarez, A. 1990. Guipuzcoan populations of maize. I. Morphological evaluation and correlation between quantitative traits. *Aula Dei* 20(1-2):27-39.
- Ruiz de Galarreta Gómez, J. I. 1993 Agrupación de poblaciones locales de maíz (*Zea mays L.*) mediante caracteres morfológicos y parámetros ambientales. Tesis doctoral. Universidad de Lleida. Salamanca.
- Ruiz de Galarreta, J.I. y Alvarez, A. 1995. Characterization of spanish maize populations according to their agroecological zone of origin. *Aula Dei* 21(3):183-187.
- Ruiz de Galarreta, J.I. y Álvarez, A., 2001. Morphological classification of maize landraces from Northern Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48:391-400.
- Ruiz Ronquillo, E.N. 2011. Caracterización agromorfológica y molecular de 49 accesiones del Banco de Germoplasma del Programa de maíz (*Zea mays*) de la EET-Pichingue del INIAP en el Cantón Quevedo de la provincia de Los Ríos. Santo Domingo, Ecuador, pp. 117.
- SAGyP – INTA. 1990. Atlas de suelos de la República Argentina. Escala 1: 500.000 y 1: 1.000.000, 2 tomos, 38 mapas, pp111-154.

- Safont Lis, J. 1971. Comparación de nudos cromosómicos entre las razas de maíz pampeanas y del Caribe. Informe Técnico n° 105. Problemas de Genética vinculados al Mejoramiento Animal y Vegetal. INTA EEA-Pergamino.
- Saleem, M., Ahsan, M., Aslam, M., Majeed, A. 2008. Comparative evaluation and correlation estimates for grain yield and quality attributes in maize. *Pakistan Journal of Botany* 40(6):2361-2367.
- Saleh, E.A., Watkins, S.E., England, J.A., Waldroup, P.W. 1997. Utilization of high oil corn in broiler diets varying in energy content. *The Journal of Applied Poultry Research* 6:107-115.
- Salhuana, W., Pollak, L.M., Ferrer, M.E., Paratori, O., Vivo, G. 1998. Breeding Potential of Maize Accessions from Argentina, Chile, USA, and Uruguay. *Crop Science* 38:866-872.
- Salinas, J. G. 1996. La productividad del suelo bajo diferentes sistemas de labranza y cobertura vegetal. Documento de campo 12. Proyecto regional GCP/RLA/107/JPN FAO. Oficina regional para América Latina y El Caribe. Santiago, Chile.
- Santa Rosa, R.H., Gil Muñoz, A., Santacruz Varela, A., López Sánchez, H., López, P.A., Colín, S.M. 2012. Phenotypic diversity of maize landraces from the Central-Eastern Highland plateau of Puebla State, México. *Fitotecnia Mexicana* 35(2):97-109.
- SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT Software: Changes and enhancements through. Release 8.2. Cary, NC.
- Schroeder, C., Onyango, K.T., Ranabhat, N.B., Jick, N.A., Parzies, H.K., Gemenet, D.C. 2013. Potentials of hybrid maize varieties for small-holder farmers in Kenya: a review based on Swot Analysis. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 13(2):7562-7586.
- Seguel Benítez, I. 2001. Conservación de los recursos fitogenéticos ex-situ. En: *Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur*". PROCISUR. Montevideo. 144 pp.
- Séne, M., Thévenot, C., Hoffmann, D., Bénétrix, F., Causse, M., Prioul, J.L. 2001. QTLs for grain dry milling properties, composition and vitreousness. *Theoretical and Applied Genetics* 102:591-599.
- Senior, M.L., Murphy, J.P., Goodman, M.M., Stuber, C.W. 1998. Utility of SSRs for Determining Genetic Similarities and Relationships in Maize Using an Agarose Gel System. *Crop Science* 38:1088–1098.
- Seetharaman, K., Tziotis, A., Borrás, F., White, P.J., Ferrer, M.; Robutti, J. 2001. Thermal and Functional Characterization of Starch from Argentinean Corn. *Cereal Chemistry* 78(4):379–386.

- Shegro, A., Labuschagne, M.T., Shargie, N.M., van Biljon, A. 2013. Multivariate analysis of nutritional diversity in Sorghum landrace accessions from Western Ethiopia. *Journal of Biological Sciences* 13(2):67-74.
- Simopoulos, A.P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine&Pharmacotherapy*56:365–379.
- Simopoulos, A.P. 2006. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine&Pharmacotherapy* 60:502–507.
- Singh, S.K, Johnson, L.A., Pollak, L.M., Hurburgh, C.R. 2001. Compositional, Physical, and Wet-Milling Properties of Accessions Used in Germplasm Enhancement of Maize Project. *Cereal Chemistry* 78(3):330-335.
- Singh Sandhu, K. y Singh, N. 2007. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry* 101:1499–1507.
- Singh, N., Vasudev, S., Yadava, D.K., Chaudhary, D.P., Prabhu, K.V. 2014. Oil improvement in maize: potential and prospects. In: Chaudhary DP, Kumar S, Langyan, S (eds) *Maize: Nutrition dynamics and novel uses*. Springer. New Delhi, India.
- Sinobas, J. y Diaz, M. 1999. Relaciones entre diferentes razas de maíz españolas y dos sintéticos americanos. *Revista Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal* 14:1-2.
- Smith, J.S.C., Chin, E.C.L., Shu, H., Smith, O.S., Wall, S.J., Senior, M.L., Mitchell, S.E., Kresovitch, S., Ziegler, J. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays L.*): Comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics* 95:163-173.
- Solari, L. R. y Gómez, S. G. 1997. Catálogo de germoplasma de maíz. Argentina. Instituto Agronómico per L`Oltremare. Firenze. p. 303.
- Song, X.F., Song, T.M., Dai, J.R., Rocheford, T., Li, J.S. 2004. QTL mapping of kernel oil concentrations with high-oil maize by SSR markers. *Maydica* 49:41-48.
- Taba, S. 1999. Latin American maize germplasm conservation: Core Subset development and regeneration; Proceedings of a Workshop held at CIMMYT, June 1-5, 1998, Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Teixeira Barbosa Pinto, A., Pereira, J., Oliveira, T., Aparecida Prestes, R., Rodrigues Mattiello, R., Mottin Demiate, I. 2009. Characterization of Corn Landraces Planted Grown in the Campos Gerais Region (Paraná, Brazil) for Industrial Utilization. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52:17-28.
- Tripp, R. y Van der Heide, W. 1996. The erosion of crop genetic diversity: challenges, strategies and uncertainties. *Natural resources perspectives*. Number 7.

- Uhart, S.A y Andrade, F.H. 1995a. Nitrogen deficiency in maize: I. Effects on crop growth, development, dry matter partitioning and kernel set. *Crop Science* 35:1376-1383.
- Uhart, S.A y Andrade, F.H. 1995b. Nitrogen deficiency in maize (*Zea mays L.*). II. Carbon-nitrogen interaction on kernel number and grain yield. *Crop Science* 35:1384-1389.
- Vaz Patto, M.C., Moreira, P.M., Almeida, N., Satovic, Z., Pego, S. 2008. Genetic diversity evolution through participatory maize breeding in Portugal. *Euphytica* 161:283-291.
- Vidal Martínez, V. A., Vásquez Carrillo, G., Coutiño Estrada, B., Ortega Corona, A., Ramírez Díaz, J. L., Valdivia Bernal, R., Guerrero Herrera, M., Caro Velarde, F., Cota Agramont, O. 2008. Calidad proteínica en colectas de maíces criollos de la Sierra de Nayarit, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31 (3):15-21.
- Vivek, B. S., Krivanek, A. F., Palacios-Rojas, N., Twumasi-Afriyie S., & Diallo, A. O. 2008. Mejoramiento de maíz con calidad de proteína (QPM): Protocolos para generar variedades QPM. México, D.F.: CIMMYT. pp. 66.
- Wander, A. E. 2003. Redesigning public agricultural research and development in Brazil. October 8-10, 2003. Deutscher Tropentag 2003. Conference on International Agricultural Research for Development. Göttingen.
- Wang, X.L. y Larkins, B.A. 2001. Genetic analysis of amino acid accumulation in opaque-2 maize endosperm. *Plant Physiology* 125:1766-1777.
- Wassom, J.J., Mikkeleni, V., Bohn, M.O., Rocheford, T.R. 2008. QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in Illinois High Oil x B73 backcross-derived lines. *Crop Science* 48:69-78.
- Watson, S.A. 2003. Description, development, structure, and composition of the corn kernel. In: With P.J., Johnson L.A. (eds). *Corn: chemistry and Technology*, 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St Paul.
- Westgate, M.E y Boyer, J.S. 1986. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science*, 26:951-956.
- Wood, D. y Lenne, J. M. 1997. The conservation of agrobiodiversity on-farm: questioning the emerging paradigm. *Biodiversity and Conservation* 6:109-129.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics populations*. Vol. 4, Variability in and among natural populations. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Bohn, M, Frisch, M., Melchinger, A.E. 2000. Optimizing automated fingerprinting of maize germplasm using SSR markers. Deutscher Tropentag 2000. Hohenheim.
- Yang, W., Zheng, Y., Ni, S., Wu, J. 2004. Recessive allelic variations of three microsatellite sites within the O2 gene in maize. *Plant Molecular Biology Reporter* 22:361-374.

- Yu, S., Derr, J., Etherton, T.D., Kris-Etherton, P.M. 1995. Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61:1129-1139.