ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS EN FAMILIAS DE MEDIO HERMANOS DE *MELILOTUS ALBUS* MEDIK. CRECIENDO EN CONDICIONES SALINAS

Trabajo Final de Grado

del alumno

AGUILAR AGUSTÍN

Este trabajo ha sido presentado como requisito

para la obtención del título de

Ingeniero Agrónomo

Carrera

Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 17 de agosto de 2021

Ingeniería Agronómica Legajo: 8882/2

ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS EN FAMILIAS DE MEDIO HERMANOS DE *MELILOTUS ALBUS* MEDIK. CRECIENDO EN CONDICIONES SALINAS

Trabajo Final de Grado

del alumno

AGUILAR AGUSTÍN

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Ing. Agr. (MSc.) Scheneiter Omar
Evaluador

Lic. (MSc.) Guillén Roque
Evaluador

Ing. Agr. (phD.) Affinito Agostina
Evaluador

Ing. Agr. (MSc.; phD.) Adriana Andrés
Co-Director

Ing. Agr. (MSc.) Ivana Varea
Director

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 17 de agosto de 2021

Agradecimientos

A mi directora Ivana Varea y Co-directora Adriana Andrés por su constante apoyo, perseverancia, dedicación y aportes valiosos para la realización de este trabajo de investigación.

A la EEA INTA Pergamino y al grupo de trabajo de la sección forrajeras, especialmente a Nelson Fioravantti y Javier Lavandera por su colaboración para llevar a cabo este trabajo final de grado.

A la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires por ser libre y gratuita, y contribuir a mi formación profesional.

A mi familia y amigos, por toda la ayuda que me dieron, por sus incansables palabras de aliento y fomento de la perseverancia.

A vos Toti querido, que me formaste y creíste en mí siempre. Caminas conmigo.

Y en especial, a Romina y Almendra, por su amor, por ser mis compañeras en esta vida.

ÍNDICE

		Página
1.	**RESUMEN……..**	**1**
2.	**INTRODUCCIÓN……...**	**2**
2.1.	Importancia de la temática……...	**2**
2.2.	La salinidad y su efecto en las plantas……..	**3**
2.3.	Origen y distribución geográfica de la especie…….	**4**
2.4.	Descripción botánica de la especie……	**5**
2.5.	Aspectos agronómicos y productivos de la especie……	**7**
2.6.	Variabilidad feno-genotípica y su caracterización……	**8**
2.7.	Mejoramiento genético de la especie en la Argentina….	**10**
3.	**HIPÓTESIS……**	**11**
4.	**OBJETIVOS……...**	**11**
4.1.	Objetivo general……	**11**
4.2.	Objetivos específicos……	**11**
5.	**MATERIALES Y MÉTODOS……...**	**12**
5.1.	Origen del germoplasma……..	**12**
5.2.	Siembra en invernáculo……	**13**
5.3.	Trasplante a sistema hidropónico……...	**14**
5.4.	Caracteres evaluados……...	**16**
5.5.	Análisis de la información……	**19**
5.6.	Análisis de la varianza……..	**19**
5.7.	Estimación de la heredabilidad en sentido estricto y sus componentes……..	**20**
5.8.	Correlaciones fenotípicas……	**21**
5.9.	Índice de tolerancia……..	**21**
5.10.	Análisis multivariado……	**22**
6.	**RESULTADOS……**	**23**

6.1. Comportamiento promedio de los genotipos…… **23**
6.2. Efecto de los tratamientos…… **24**
6.3. Respuesta de los genotipos a los tratamientos…… **28**
6.3.1. Altura de plántula (ALT)…… **28**
6.3.2. Número de hojas (NH)…….. **29**
6.3.3. Número de ramas (NR)……... **30**
6.3.4. Peso fresco y seco de hoja (PFH y PSH)……. **31**
6.3.5. Peso fresco y seco de tallo (PFT y PST)……... **33**
6.3.6. Longitud de raíz (LR)…… **35**
6.3.7. Verdor (SPAD)……... **35**
6.3.8. Área foliar (AF)……... **36**
6.3.9. Peso seco de raíz (PSR)…….. **38**
6.3.10. Peso seco aéreo (PSA)…… **39**
6.3.11. Peso seco total(PSTotal)…….. **40**
6.3.12. Relación hoja/tallo (Relación H/T)…….. **41**
6.4. Estimación de parámetros genéticos……. **43**
6.5. Correlaciones fenotípicas…… **44**
6.6. Índice de tolerancia a la salinidad…….. **45**
6.7. Relación entre la productividad y la tolerancia a la salinidad……. **46**
6.8. Análisis de clúster jerárquico……..... **49**
6.9. Análisis de componentes principales…… **51**
7. **DISCUSIÓN……** **53**
8. **CONCLUSIONES……** **57**
9. **BIBLIOGRAFÍA……** **58**
ANEXOS…… **66**

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Identificación y lugar de procedencia del germoplasma de trébol de olor blanco……	**13**
Tabla 2	Caracteres evaluados y fechas de medición para el germoplasma de trébol de olor blanco utilizado…….	**18**
Tabla 3	Comportamiento promedio del germoplasma de *M. albus* en ensayo hidropónico…….……..	**23**
Tabla 4	Reducción del crecimiento (en porcentaje) respecto del control por efecto de la concentración salina (tratamiento S1 y S2) para los caracteres evaluados en los 7 genotipos de *M. albus*……	**25**
Tabla 5	Medias y error estándar de los caracteres evaluados en los tres tratamientos de concentración salina para cada genotipo de *Melilotus albus*……	**26**
Tabla 5 (cont.)	Medias y error estándar de los caracteres evaluados en los tres tratamientos de concentración salina para cada genotipo de *Melilotus albus*…….	**27**
Tabla 6	Componentes de varianza: varianza ambiental (σ^2_e), varianza familiar (σ^2_f) y heredabilidad (h^2) para cada carácter en los distintos tratamientos de concentración salina ……...	**43**
Tabla 7	Coeficiente de correlación de Pearson y nivel de significancia entre caracteres……	**45**
Tabla 8	Índice de tolerancia según genotipo y tratamiento salino para peso seco aéreo y peso seco total……...……	**46**

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Morfología de *Melilotus albus* ……	**6**
Figura 2	Plántulas de *M. albus* en bandejas de germinación……	**14**
Figura 3	a) Plantas de *M. albus* en hidroponia…….....	**15**
	b) Disposición del ensayo en el invernáculo y sistema de oxigenación de la solución nutritiva……..….....	**15**
Figura 4	Reducción del crecimiento respecto del control por efecto de los tratamientos salinos S1: 210 mM y S2: 360 mM para los caracteres evaluados……	**24**
Figura 5	Altura de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina……..……..	**28**
Figura 6	Altura de los tratamientos de concentración salina…..…….	**29**
Figura 7	Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para NH en los distintos tratamientos de concentración salina……..…….	**30**
Figura 8	Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para NR en los distintos tratamientos de concentración salina……..……	**31**
Figura 9	Peso fresco de hoja de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina……..……	**32**
Figura 10	Peso seco de hoja de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina……..	**32**
Figura 11	Peso fresco y seco de hoja según los tratamientos de concentración salina……..……	**33**
Figura 12	Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PFT (g) en los distintos tratamientos de concentración salina…….….....	**34**

Figura 13 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PST (g) en los distintos tratamientos de concentración salina…….…. **34**
Figura 14 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para LR (cm) en los distintos tratamientos de concentración salina……..…… **35**
Figura 15 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para verdor (SPAD) en los distintos tratamientos de concentración salina……... **36**
Figura 16 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para AF (cm^2)……..…… **37**
Figura 17 Área foliar según los tratamientos de concentración salina…. **37**
Figura 18 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PSR (g) en los distintos tratamientos de concentración salina……..…… **38**
Figura 19 Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PSA (g) en los distintos tratamientos de concentración salina……... **39**
Figura 20 Peso seco total (g.) según los genotipos……... **40**
Figura 21 Promedio de los tratamientos de concentración salina para PSTotal…….…… **41**
Figura 22 Relación H/T promedio según los genotipos y tratamientos de concentración salina……..…... **42**
Figura 23 Relación entre ITPSA y el PSA para ambos tratamientos salinos (S1 y S2)……. **47**
Figura 24 Relación entre ITPSTotal y el PSTotal para ambos tratamientos salinos (S1 y S2). ……..…….. **48**
Figura 25 Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento control……. **49**
Figura 26 Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento salino 1…… **50**
Figura 27 Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento salino 2…… **51**

Figura 28 Análisis de los componentes principales para ALT, NH, NR, LR, PSR y PSA, utilizando como criterios de clasificación los genotipos y los tratamientos…….. **52**

PALABRAS CLAVES: *Melilotus albus* Medik., variabilidad genética, caracterización morfológica, salinidad, hidroponía

1. Resumen

En Argentina, en los últimos años se ha generado una transformación respecto del uso de la tierra, caracterizada por un desplazamiento de la producción ganadera hacia zonas marginales asociadas a distintas limitantes, entre ellas, la salinidad. El trébol de olor blanco (*Melilotus albus*) es una leguminosa forrajera adaptada a esos ambientes, producto de su elevada plasticidad fenotípica. El objetivo de este estudio fue la determinación de parámetros genéticos y fenotípicos durante el crecimiento inicial en condiciones salinas en hidroponía, de 5 FMH selectas por tolerancia a la salinidad. Además, se evaluaron 2 testigos, un cultivar comercial “El Domador MAG” y un ecotipo “La Sarita”. Para eso se condujo un diseño experimental con arreglo factorial de dos repeticiones y dos factores: nivel de salinidad (Control = 0 mM NaCl, Elevada = 210 mM NaCl y Muy elevada = 360 mM NaCl) y germoplasma. Se evaluaron caracteres de crecimiento inicial en 10 plantas por genotipo: altura de planta (ALT), numero de hojas (NH), numero de ramas (NR), peso fresco de hoja y tallo (PFH y PFT), longitud de raíz (LR), verdor (SPAD), área foliar (AF), peso seco de hoja (PSH), peso seco de tallo (PST), peso seco de raíz (PSR), peso seco aéreo (PSA), peso seco total (PSTotal) y relación hoja/tallo. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva y ajustando modelos lineales generales y mixtos con el paquete estadístico Infostat/P y su interfaz con R. Se estimaron los componentes de variancia y heredabilidad en sentido estricto en base a la media familiar para cada carácter y tratamiento a partir de las esperanzas de los cuadrados medios. Se calculó el índice de tolerancia para la biomasa seca aérea y total. Los resultados obtenidos indicaron que la salinidad produjo una reducción significativa en el crecimiento inicial de las plantas de *M. albus* respecto de la condición control, en todos los genotipos evaluados, observándose mayor reducción con el incremento de la concentración salina, sin afectar la supervivencia. Los valores de heredabilidad encontrados fueron elevados en ambos tratamientos salinos para el total de los caracteres evaluados, lo cual indica un importante componente genético aditivo. La respuesta de las FMH dependió del tratamiento impuesto. Las relaciones entre la productividad y tolerancia indicaron que la FMH 5 y 18 fueron las más productivas y tolerantes, lo que las vuelve promisorias dentro del programa de mejoramiento de la especie.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Importancia de la problemática

En las últimas décadas se ha producido un reordenamiento en el uso de la tierra como consecuencia del incremento de la superficie dedicada a la agricultura y la disminución de la superficie ganadera, debido a los precios crecientes de los granos a nivel internacional y la incorporación de tecnología en la producción de cultivos extensivos (Miñón, 2013). En este escenario, la ganadería de carne ha sido relocalizada en ambientes marginales, caracterizados éstos por limitantes edáficas, como exceso de sales solubles, baja fertilidad física y/o química, anegamientos temporarios, y otros factores climáticos adversos que afectan la productividad (De León, 2004; Karlin *et al.,* 2012). En particular en la región pampeana, la mayor densidad de ganado se concentra en la Depresión del Salado, en suelos con graves limitantes edáficas caracterizados por la presencia de salinidad.

La participación de las pasturas cultivadas en la oferta forrajera de estos sistemas ganaderos es nula o escasa (Bazzigalupi *et. al*., 2008), por lo que surge la necesidad de intensificar el uso de los recursos forrajeros y mejorar la productividad y la adaptabilidad de las pasturas en estos ambientes variables (Acuña *et. al*., 2015). Esta situación, impulsó a que se revalorizan aquellas especies de adaptación productiva probada en estos ambientes, y se inicien programas de mejoramiento genético vegetal con el fin de obtener germoplasma forrajero superior en producción y calidad de forraje, como una posible solución al problema (De León, 2004; Acuña *et al*., 2015). Hallar especies tolerantes a éstos ambientes restrictivos con presencia de estreses bióticos o abióticos es imprescindible para lograr una producción sustentable y satisfacer la creciente demanda de alimentos (Muhammad y Nudrat, 2009).

El trébol de olor blanco (*Melilotus albus* Medik.), también llamado melilotus blanco o melilotus alba, es una de las principales leguminosas forrajeras destinada a ambientes restrictivos en Argentina. Esta especie se caracteriza por su gran adaptación ambiental, especialmente a suelos de bajo potencial productivo debido a limitantes edáficas y/o climáticas, y por su producción de forraje en condiciones donde otras leguminosas como alfalfa, trébol rojo y blanco no se desarrollan adecuadamente (Traverso *et al.*, 2005).

2.2. La salinidad y su efecto en las plantas

La salinidad del suelo es uno de los principales factores abióticos que afecta la productividad de los cultivos, limitando su crecimiento y rendimiento (Ashraf y Harris, 2004; Yamaguchi y Blumwald, 2005). Según Leidi y Pardo (2002), alrededor de un 10 % de la superficie mundial se encuentra afectada en mayor o menor medida por salinidad, especialmente zonas áridas y semiáridas. La República Argentina es el tercer país con mayor superficie de suelos afectados por halomorfismo en el mundo, después de Rusia y Australia, con alrededor de 85 millones de hectáreas (FAO, 2019).

Los suelos denominados *salinos* son los que se caracterizan por contener una alta concentración de sales solubles (principalmente cloruros y sulfatos de sodio), con una conductividad eléctrica de 4 dS/m o superior, siendo esto equivalente (en una solución salina) a aproximadamente 40 mM de NaCl (Munns y Tester, 2008). En términos generales, el rendimiento de la mayoría de las glicófitas cultivadas disminuye cuando la conductividad eléctrica del agua del suelo supera los 4 dS/m (Rogers *et al*., 2005; Munns y Tester, 2008).

La presencia de sales solubles en el suelo afecta negativamente al proceso de germinación de semillas y al crecimiento de las plantas de dos maneras; en primer lugar se produce un efecto osmótico, debido a la presencia de sales en la rizósfera, que reduce la capacidad de las plantas para absorber agua con la consecuente caída de la tasa de expansión foliar y de crecimiento y, en segundo término, se puede producir un efecto iónico cuando la concentración de iones en las hojas alcanzan niveles tóxicos (Dodd y Donovan, 1999; Hasegawa *et al*., 2000; Tester y Davenport, 2003; Munns y Tester, 2008; Martín *et al*., 2012). El estrés osmótico tiene un efecto inmediato y mayor sobre la tasa de crecimiento respecto del estrés iónico, el cual impacta en el crecimiento más tarde y con menos efectos, cuando los niveles de salinidad son bajos o moderados. Solo en niveles de salinidad elevados, o en especies sensibles, el estrés iónico es más importante que el estrés osmótico. Además, se puede producir un desequilibrio nutritivo, dada la elevada concentración de elementos (Na^+ y Cl^-) o una combinación de los factores anteriores que operan en detrimento de la productividad y rendimiento (Leidi y Pardo, 2002; Ashraf y Harris, 2004).

Las especies vegetales difieren en su tolerancia a la salinidad (glicófitas versus halófitas) y a su vez entre genotipos dentro de una misma especie (Munns y Tester, 2008). La tolerancia a las sales es un carácter poligénico, heredable, que involucra un gran número de genes responsables de la respuesta al estrés iónico y osmótico a nivel celular como compartimentalización de iones, producción de solutos compatibles, control del movimiento de iones a través de las membranas, regulación de la transpiración mediante control de estomas y tamaño de hojas, reducción de la expansión de hojas y raíces, entre otros (Flowers y Flowers, 2005; Bazzigalupi *et al*., 2008; Munns y Tester, 2008).

Díaz (1963) en ensayos de forrajeras para suelos salinos en el Dpto. Cruz Alta (Tucumán) determinó la siguiente escala de tolerancia: *Sporobolus airoides (álcali sacaton*; *Melilotus albus* (trébol de olor blanco), *Melilotus officinalis* (trébol de olor amarillo); *Chloris gayana* (grama Rhodes) y *Thinopyrum ponticum Podp* (agropiro alargado). Díaz y Lagomarsino (1969) en suelos del Departamento Leales (Tucumán) con contenidos de sales variables (CE 5,2 a 7,7 dS/m, PSI 32 a 55 y pH 9,2 a 10) citan como forrajeras de potencial productivo a: *Thinopyrum ponticum Podp* (agropiro alargado); *Cynodon dactylon* var. Maritimum (grama bermuda); *Chloris gayana* (grama Rhodes cvs. Común y Katambora) y *Melilotus albus* (trébol de olor blanco var. annua).

2.3. Origen y distribución geográfica de la especie

El trébol de olor blanco (*Melilotus albus* Medik.) es una forrajera leguminosa nativa de la región Euro-Afro-Asiática que circunda el Mar Mediterráneo y se encuentra ampliamente difundida en todas las zonas templadas del mundo. Se introdujo en Norteamérica en el siglo XVIII, donde se la utilizaba como melífera y como abono verde, para estabilizar suelos muy erosionados, aunque su cultivo se incrementó al descubrirse su aptitud forrajera para el ganado, especialmente en áreas de bajo potencial productivo (Ríos *et al.*, 1993; López *et al.,* 2016; Tomás *et al.*, 2016). Es una especie que se ha naturalizado en diversas zonas de la Argentina (Troiani y Steibel, 2008; Andrés y Lavandera, 2012). Es frecuente encontrarla a los costados de rutas y caminos o formando praderas (Smith y Gorz, 1965; Maddaloni y Ferrari, 2001).

2.4. Descripción botánica de la especie

Melilotus spp pertenece al Orden Fabales, Familia Fabáceas, Subfamilia Papilionoideas. Este género comprende alrededor de 20 especies (Isely, 1954), de las cuales solo tres tienen importancia económica, *M. officinalis* (L.) Lam. "trébol de olor amarillo", *M. albus* Medik. "trébol de olor blanco" y *M. indicus* (L.) All. "trébol de olor común" (Maddaloni y Ferrari, 2001; Sherif, 2008). A las tres especies mencionadas debe agregarse *M. dentata* (Waldst. & Kit., com. pers) que se caracteriza por su bajo contenido de cumarina, lo que la vuelve una opción importante en planes de mejoramiento con vistas a la incorporación de dicho carácter en las especies cultivadas (Traverso *et al.*, 2005).

Tanto *M. albus* como *M. officinalis* son las dos especies ampliamente cultivadas de las que derivan la mayoría de las variedades comerciales que se emplean como forrajeras, melíferas, heno, cultivos de cobertura y abonos verdes (López *et al.,* 2016, Toll Vera, 2018).

M. albus es una especie que posee dos formas botánicas:

- **anuales**, *Melilotus albus* var. botanica *annua* Coe.o trébol de Hubam.
- **bianuales**, *Melilotus albus* var.botanica *albus* Medik.o trebol de Bokhara.

Melilotus albus Medik. es una planta de porte erecto y semierecto, ramificada, con tallos erguidos y ascendentes, pudiendo alcanzar fácilmente los 2 metros de altura. Su sistema radical se caracteriza por presentar un eje principal pivotante, grueso y subleñoso, con algunas ramificaciones (Ríos *et al.,* 1993). En las formas bianuales, los tallos se van lignificando a medida que avanza la madurez, y en la base de los mismos, hacia el final del primer año, se diferencia una corona con yemas de renuevo. Las plántulas presentan cotiledones oblongos y opuestos, y la primera hoja es unifoliada, y el resto de las hojas son pinnado trifoliadas, pecioladas y alternas. Los foliolos son subcarnosos, de color verde oscuro a veces glauco, de borde finamente dentado (Maddaloni y Ferrari, 2001).

Poseen inflorescencias en racimos axilares simples, pedunculados. Las flores son pequeñas, cortamente pediceladas, con corola papilionoidea de color blanca. El fruto es un utrículo 1-2 seminado, péndulo globoso, u ovalado, apiculado, indehiscente o tardíamente

dehiscente, y se desprenden fácilmente de la infrutescencia a la madurez. Las semillas son pequeñas de forma ovoidal acorazonada, achatada, con un peso de mil semillas de aproximadamente 1,7 a 1,8 gramos (Maddaloni y Ferrari, 2001). En la Figura 1 se observan los tallos, hojas e inflorescencias de la planta.

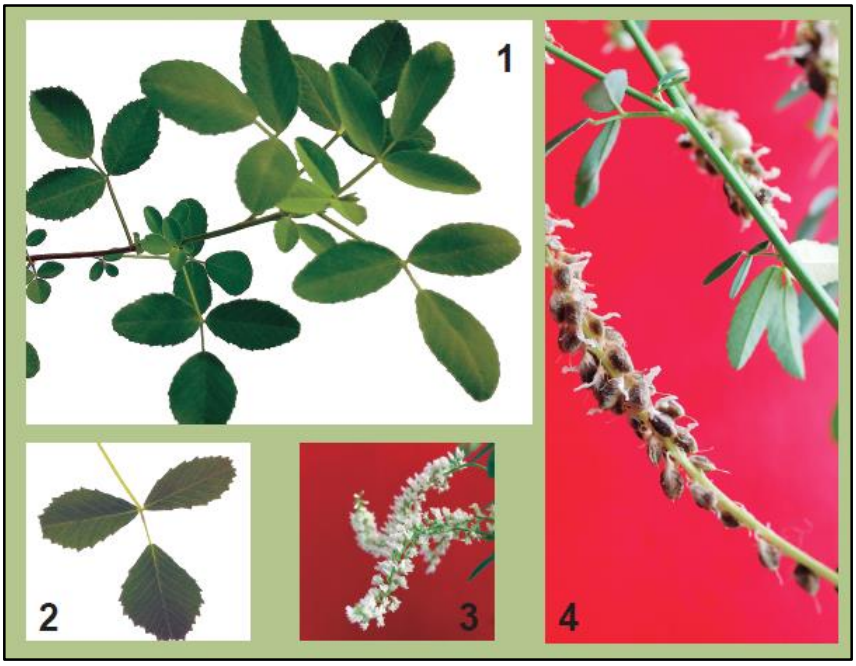


Figura 1. Morfología de *Melilotus albus*: 1) tallo con hojas alternas y pecioladas; 2) hoja compuesta por foliolos denticulados; 3) inflorescencias con flores dispuestas en racimos laxos; y 4) frutos inmaduros. Fuente: Dr. Ariel Odorizzi y Mg. Valeria Arolfo en: López *et al*., 2016.

2.5. Aspectos agronómicos y productivos de la especie

Melilotus albus se caracteriza por adaptarse a una amplia gama de condiciones climáticas y edáficas, ya que es una de las especies forrajeras más plásticas en cuanto a requerimientos ambientales. Prospera tanto en bajos salitrosos como en lomadas medanosas, es resistente a heladas, produce forraje de calidad y posee una gran capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico (Covas, 1964 y 1965).

La inclusión de *M. albus* como cultivo de invierno en las cadenas forrajeras, se debe principalmente a su rusticidad, calidad forrajera y una abundante producción de forraje en un momento crítico como es la salida del invierno y comienzo de la primavera (Cangiano y Mombelli, 1975).

Presenta un ciclo productivo otoño-invierno-primaveral. Se utiliza principalmente como forraje en pastoreo directo para la ganadería de carne, en cultivo puro o consociado con alguna gramínea templada o subtropical (Bruno *et al.*, 1983; Berti, 1989). Según Berti (1989), en un ensayo realizado en Las Breñas (Chaco), la siembra combinada de avena y melilotus permitió obtener una mayor producción total de forraje y mejorar la distribución de la oferta en el tiempo.

La remoción del follaje es un factor altamente determinante del comportamiento de la planta y por lo tanto el momento de defoliación inicial constituye una herramienta decisiva para mejorar el rendimiento de biomasa aprovechable y para prolongar el período de utilización sin resignar calidad. Se aconseja iniciar el pastoreo cuando el cultivo alcanza 30 - 40 cm de altura y dejar un remanente de 8 - 10 cm para favorecer la actividad fotosintética y un mejor rebrote posterior (Toll Vera, 2018). Es recomendable no postergar el aprovechamiento de forraje (o corte para henificación) más allá de iniciada la floración, debido a que a partir de este momento fenológico decae rápidamente la relación hoja: tallo y digestibilidad, producto de la lignificación de los tallos (Veneciano, 1994).

En la zona de Córdoba, López *et al.* (2016), destacan el valor forrajero del trébol de olor blanco para la confección de forraje conservado (heno y ensilaje) en las áreas marginales donde se encuentran tanto explotaciones ganaderas de carne como de lechería. Además, es

una especie muy valorada como mejoradora de suelos (ya sea como cultivo de servicios o como abono verde) en ambientes con limitantes edáficas. Gracias a su sistema radical pivotante y profundo ayuda a revertir la compactación, mejora la porosidad edáfica y aumenta los niveles de materia orgánica y nitrógeno del suelo (Romero y Ruiz, 2001; Fontana, 2014) y como melífera debido a su floración escalonada que es intensamente aprovechada por las abejas (Maddaloni y Ferrari, 2001; López *et al.*, 2016; Toll Vera, 2018).

Los tréboles de olor, deben su nombre vulgar a la presencia de cumarina, un compuesto que libera un olor dulce cuando se rompen los tejidos. El contenido de cumarina es variable no sólo entre diferentes especies de *Melilotus*, sino también entre variedades, ecotipos e individuos de la misma especie. También varía a lo largo del desarrollo de la planta, posiblemente por su papel en los mecanismos de defensa para protegerla de los herbívoros, aumentando en general hacia la fase reproductiva, siendo máximo en hojas nuevas y yemas o como respuesta a factores de estrés bióticos (plagas y enfermedades) o abióticos (salinidad, alcalinidad, deficiencias nutricionales en el suelo, etc.) (Nair *et al.*, 2010).

La cumarina puede ser tóxica para el ganado, debido a que por hidrólisis se transforma en dicumarol, el cual interfiere activamente en el proceso de la coagulación sanguínea e inhibe la conversión de protrombina a trombina (Garcia *et al.*, 2005; Toll Vera, 2018). La protrombina permite la coagulación sanguínea ante lesiones y así, previene las hemorragias.

2.6. Variabilidad feno-genotípica y su caracterización

La variabilidad fenotípica y genotípica puede ocurrir en caracteres morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y/o fenológicos, en cualquier etapa del ciclo de vida del individuo (Primack y Kang, 1989). La variación puede darse a distintos niveles de organización biológica, entre especies y dentro de especies. A su vez, la variación intraespecífica se expresa entre poblaciones (interpoblacional), entre individuos dentro de las poblaciones (intrapoblacional) y dentro de individuos (heterocigosis) (Snaydon, 1985). El rango de variabilidad puede extenderse desde polimorfismos conspicuos (por ejemplo: color de flor) hasta variaciones moleculares invisibles (por ejemplo, constitución de proteínas) (Ernst, 1987). La cantidad de

esa variación depende del tipo y la intensidad de selección que las poblaciones hayan experimentado previamente (Snaydon, 1978).

La variabilidad de caracteres entre individuos de una especie es la base para los procesos de selección natural y mejoramiento genético por el hombre. Las características morfológicas de las plantas forrajeras (p. ej. hábito de crecimiento, aptitud forrajera, altura de planta, número de macollos, entre otras), poseen un papel clave en su capacidad para adquirir recursos, en su habilidad competitiva y en su interacción con herbívoros (Quiroga, 2011).

Los caracteres morfo-fisiológicos, como altura de planta, hábito de crecimiento y particularmente la fecha de floración presentan mayor respuesta a la selección artificial que caracteres como la producción de materia seca (Aamlid, 1999).

Los factores genéticos determinan la cantidad de variación genética disponible, mientras que los factores ecológicos determinan la cantidad de la misma que realmente persiste. Hay una considerable cantidad de evidencia acumulada que indica la importancia de los factores ecológicos, especialmente la heterogeneidad ambiental, para la determinación de la variación genética (Hedrick *et al.*, 1976). Así, la variación fenotípica observada dentro de una población es el producto tanto de la variabilidad genotípica como de las modificaciones plásticas de los individuos originadas en las pequeñas diferencias de sus ambientes (Heslop-Harrison, 1959).

El sistema reproductivo de una especie ha sido identificado como uno de los factores de mayor influencia sobre la diversidad genética presente en una población (Loveless y Hamrick, 1984). En especies alógamas, como el trébol de olor blanco, el flujo génico, ya sea a través del polen o de la semilla puede promover el mantenimiento de la variabilidad genética entre las poblaciones.

La mayoría de las poblaciones de pasturas nativas o naturalizadas, contienen abundante variación genética: la cantidad de esa variación depende del tipo e intensidad de selección natural que las poblaciones hayan experimentado previamente (Snaydon, 1978).

2.7 Mejoramiento genético de la especie en la Argentina

En Argentina la oferta de cultivares es escasa, con unos pocos inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares: un viejo cultivar “Pergamino El Domador MAG” desarrollado en la década de los ‘50, “Faraón” inscripto en 2007 por la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, “Baralbo” (Palaversich y CIA S.A.C.), “Munay” (Universidad Nacional del Litoral) y “Yachay” (Universidad Nacional del Litoral) (INASE, 2020).

El INTA ha propiciado el mejoramiento genético de *M. albus* por considerarse una especie clave para los sistemas ganaderos de zonas con limitantes, dada su amplia distribución en el territorio nacional y por su capacidad de adaptación a múltiples ambientes.

En los últimos años, equipos de mejoradores de especies forrajeras de diversas Estaciones Experimentales Agropecuarias (EEA) del INTA se han consolidado en un Programa de mejoramiento genético en *Melilotus albus* que involucra el trabajo en red de la EEA Pergamino, EEA Manfredi, EEA Concepción del Uruguay, EEA Rafaela y la UNNOBA. El programa tiene como objetivo desarrollar materiales de *Melilotus* con mejores características forrajeras para ambientes restrictivos. Las líneas de mejoramiento apuntan a incrementar la foliosidad, reducir la altura de planta y retrasar la floración, sin mermar producción de forraje en buena cantidad y calidad. El germoplasma base para el programa está constituido por colectas de materiales adaptados de distintas regiones del país, que luego de evaluaciones sucesivas permitieron la selección de los mejores materiales que actualmente se entrecruzan e intercambian entre las Estaciones Experimentales participantes.

La caracterización morfofisiológica y la estimación de los componentes de la varianza genética y ambiental en caracteres de interés agronómico de germoplasma de cualquier cultivo es un procedimiento que se utiliza para iniciar programas de mejoramiento genético (Machado, 2011). Se busca encontrar la mayor variabilidad entre los individuos para luego poder realizar selección y mejoramiento de la especie. El objetivo de este trabajo es analizar la variabilidad

genética durante el crecimiento inicial de genotipos de *Melilotus albus* expuestos a distintas concentraciones salinas en un medio hidropónico.

3. HIPÓTESIS

El crecimiento inicial de genotipos de *Melilotus albus* expuestos a condiciones de salinidad, expresa variabilidad genética con un componente aditivo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Analizar la variabilidad genética en el germoplasma de *Melilotus albus* durante el crecimiento inicial en condiciones de salinidad.

4.2. Objetivos específicos

- Fenotipar el crecimiento inicial de genotipos de trébol de olor blanco en condiciones de salinidad.
- Estimar parámetros genéticos de los caracteres de crecimiento inicial en los genotipos sometidos a condiciones de salinidad.
- Detectar genotipos tolerantes y susceptibles a salinidad.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en la unidad integrada UNNOBA-INTA Pergamino situada en el predio de la EEA INTA Pergamino (33°56' S; 60°33' O).

5.1. Origen del germoplasma

A partir de una nursery de 24 poblaciones provenientes del Banco Activo de Germoplasma de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino se eligieron 18 plantas madres que originaron 18 familias de medios hermanos (FMH) de *M. albus* (numeradas consecutivamente de 1 a 18) y fueron evaluadas en un ensayo en invernáculo bajo condición de hidroponía para tolerancia a la salinidad en 2014 (Varea *et al.*, 2016, Varea *et al*., 2017 b). Se seleccionaron cinco familias (FMH 2, 5, 6, 14 y 18) y se llevaron a un lote de policruzamiento durante el año 2015, siendo la descendencia evaluada en el año 2016 en el presente estudio.

El germoplasma evaluado consistió en las cinco FMH tolerantes a la salinidad descriptas anteriormente (Varea *et al*. 2017 a; Aguilar *et al*., 2018); un ecotipo denominado “La Sarita” y un viejo cultivar obtenido por INTA en 1954 “Pergamino El Domador MAG”, provistos por el Banco Activo de Germoplasma de EEA INTA Pergamino (Tabla 1). El ecotipo y el cultivar fueron incluidos como testigos del presente estudio.

Tabla 1: Identificación y lugar de procedencia del germoplasma de trébol de olor blanco.

Germoplasma / Identificación	Procedencia de la población original*
FMH 2 (2)	Ayacucho, Bs. As.
FMH 5 (5)	Pergamino, Bs. As.
FMH 6 (6)	Santiago del Estero
FMH 14 (14)	Villegas, Bs. As.
FMH 18 (18)	Villegas, Bs. As.
Ecotipo "La Sarita" (LAS)	BA**
Cultivar "Pergamino El Domador MAG" (ELD)	BA**

*Procedencia de la población a la cual pertenecía la planta madre de la FMH respectiva.

**BA: Banco Activo de Germoplasma de EEA INTA Pergamino.

5.2. Siembra en invernáculo

A mediados de marzo de 2016 se realizó la siembra con semilla escarificada manualmente de las 5 FMH, el cultivar y el ecotipo en bandejas de germinación de 72 celdas, las cuales contenían un sustrato compuesto por 2 partes de tierra y una de arena (Figura 2). Se mantuvieron en invernáculo en condiciones controladas de temperatura y radiación en la EEA INTA Pergamino, regadas y desmalezadas hasta alcanzar el desarrollo de 3 hojas verdaderas, momento óptimo para realizar el trasplante.

Figura 2: Plántulas de *M. albus* en bandejas de germinación.

5.3. Trasplante a sistema hidropónico

El 10 de mayo de 2016 se trasplantaron las plantas a las macetas conteniendo únicamente agua para lograr la adaptación al medio hidropónico. Dos días después, se comenzó a utilizar la solución hidropónica nutritiva Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950), contenida en macetas plásticas estilo jardinera de 6 litros, y se estableció el ensayo bajo un diseño experimental en bloques completos aleatorizados con arreglo factorial de dos factores: nivel de salinidad (Control = 0 mM NaCl, S1 o Elevada = 210 mM NaCl y S2 o Muy elevada = 360mM NaCl) y germoplasma. Cada material estuvo representado por 10 individuos, con 2 repeticiones, dispuestos en una placa de telgopor perforada en cada una de las macetas (Figura 3 a y b).

Figura 3 a) Plantas de *M. albus* en hidroponia.

Figura 3 b) Disposición del ensayo en el invernáculo y sistema de oxigenación de la solución nutritiva.

A partir de la fecha 27/05/16 se aplicaron concentraciones crecientes de NaCl a la solución nutritiva en 9 incrementos de 23,3 mM y 40 mM de NaCl cada 3 días hasta llegar a los niveles de cada tratamiento (según el nivel de salinidad elevada y muy elevada, respectivamente). Alcanzada la concentración salina deseada, las plantas permanecieron 10 días en esas condiciones hasta la finalización del ensayo. En el caso de los tratamientos salinos, transcurrieron 35 días de exposición a la salinidad, considerando la fecha del primer incremento de NaCl hasta finalizar el ensayo. El día 01/07/16 se dio por finalizado el ensayo,

mediante la extracción de las plantas de la base portante de telgopor y posterior fraccionamiento de la parte aérea y radical. La parte aérea de cada planta se colocó en bolsas de polietileno, debidamente identificadas y refrigeradas hasta la medición de peso fresco, y las raíces de cada planta se colocaron en bolsas de papel individuales e identificadas. Para la determinación del peso fresco de hojas y tallos, se separó con tijera hojas de tallos, y se colocó cada fracción en bolsas de papel, correctamente identificadas, hasta su pesaje.

Durante todo el ensayo en hidroponía se mantuvo la oxigenación de las soluciones mediante el burbujeo constante con aireadores marca Precisión SR 7500 y se controlaron las condiciones de evapotranspiración y deposición de verdín renovando la solución cada 7 días.

5.4. Caracteres evaluados

Altura (ALT): se midió la altura de las plantas en centímetros, desde la base portante de telgopor hasta el ápice, con regla graduada.

Número de hojas (NH): se contabilizó el número de hojas por planta.

Número de ramas (NR): se contabilizó el número de ramas por planta.

Peso fresco de hojas (PFH): se midió el peso fresco de hojas por planta en gramos, con balanza de precisión.

Peso fresco de tallo (PFT): se midió el peso fresco de tallos por planta en gramos, con balanza de precisión.

Longitud de raíces (LR): se midió con regla graduada la longitud de la raíz principal de cada planta.

Contenido de clorofila o verdor (SPAD): se determinó el contenido de clorofila con el instrumento SPAD Minolta modelo 502 plus, para cada una de las macetas. Para ello, se tomaron nueve hojas de tres plantas elegidas al azar de cada contenedor, y se midió el contenido de clorofila sobre el foliolo central de cada hoja.

Área foliar (AF): se realizó la medición del área foliar de una muestra de 3 gramos en cada una de las tres plantas por maceta elegidas al azar, y se expresó el resultado en centímetros cuadrados por planta. Para la determinación se utilizó un medidor de área foliar marca LICOR modelo LI-3100C.

Peso seco de hoja (PSH): se realizó la medición del peso seco de la fracción hoja de cada planta, con balanza de precisión y expresado en gramos. (*)

Peso seco de tallo (PST): se realizó la medición del peso seco de la fracción tallo de cada planta, con balanza de precisión y expresado en gramos. (*)

Peso seco de raíz (PSR): se realizó la medición del peso seco de la fracción raíz de cada planta, con balanza de precisión y expresado en gramos. (*)

Peso seco aéreo (PSA): se calculó como la suma entre el peso seco de hojas y el peso seco de tallo (PSA=PSH+PST).

Peso seco Total (PSTotal): se determinó como la suma de la fracción de peso seco aéreo más el peso seco de raíz (PSTotal=PSA+PSR).

Relación H/T: se determinó la relación hoja/tallo como el cociente entre el PSH divido PST.

(*) Para las determinaciones de pesos secos, las muestras fueron llevadas a estufa de aire forzado 48 horas antes de la medición, hasta lograr peso constante.

En la tabla 2 se resumen las variables analizadas y su momento de medición.

Tabla 2: Caracteres evaluados y fechas de medición para el germoplasma de trébol de olor blanco evaluado.

Carácter	Unidad	Abreviatura	Fecha de medición
Altura	Centímetros (cm)	ALT	27/06/16
Número de hojas	Conteo	NH	27/06/16
Número de ramas	Conteo	NR	28/06/16
Peso fresco hoja	Gramos (g)	PFH	01/07/16
Peso fresco tallo	Gramos (g)	PFT	01/07/16
Longitud raíces	Centímetros (cm)	LR	01/07/16
Contenido de clorofila o verdor	-	SPAD	01/07/16
Área foliar	Centímetros^2 (cm^2)	AF	01/07/16
Peso seco hoja	Gramos (g)	PSH	06/07/16
Peso seco tallo	Gramos (g)	PST	07/07/16
Peso seco raíz	Gramos (g)	PSR	08/07/16
Peso seco aéreo	Gramos (g)	PSA	-
Peso seco total	Gramos (g)	PSTotal	-
Relación hoja /tallo	-	Relación H/T	-

5.5. Análisis de la información

Los datos obtenidos en la evaluación de caracteres morfo-agronómicos fueron analizados mediante modelos lineales generalizados y mixtos con el paquete estadístico Infostat/P y su interfaz con R (Di Rienzo *et al.,* 2013). Para el análisis de la variancia, se ajustó un modelo considerando los factores genotipo, tratamiento y su interacción (GENOTIPO*TRATAMIENTO). También se calculó la heredabilidad y se realizaron análisis multivariados (Conglomerados y componentes principales).

5.6. Análisis de la varianza

Se realizó el análisis de la variancia mediante el programa estadístico Infostat/R, este método permite comparar el comportamiento promedio de las FMH para los diferentes caracteres.

Para analizar la significancia de las variancias de los caracteres medidos entre familias se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = variable observada en la unidad experimental ubicada en el bloque k, a la cual se le aplicó el nivel i del factor nivel de salinidad y el nivel j del factor genotipo.

μ = promedio general.

α_i = efecto que produce el nivel i del factor nivel de salinidad.

β_j = efecto que produce el nivel j del factor genotipo.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = efecto de la interacción entre el nivel i del factor salinidad y nivel j del factor genotipo.

γ_k = efecto del bloque k.

ε_{ijk} = error aleatorio asociado al valor Y_{ijk}.

5.7. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto y sus componentes

Se define heredabilidad en sentido estricto (h^2) al cociente de la variancia genética aditiva (σ^2a) sobre la variancia fenotípica (σ^2p):

$$h^2 = \sigma^2_a / \sigma^2_p$$

La heredabilidad expresa la porción de la variancia total que es atribuible a los efectos medios de los genes y esto es lo que determina el grado de parecido entre parientes.

La variancia familiar (σ^2_f) representa la variancia genética entre las familias de medio hermanos, la cual es igual a la covariancia dentro de las familias de medios hermanos (covMH). Esta puede ser utilizada para estimar la variancia aditiva (σ^2_a), ya que

$$\sigma^2_f = covMH = \tfrac{1}{4}\, \sigma^2_a$$

La variancia aditiva puede estimarse como

$$\sigma^2_a = 4\, \sigma^2_f$$

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

$$h^2 = \frac{\sigma_f^2}{\sigma_f^2 + \frac{\sigma_e^2}{r}}$$

donde, r son las 2 repeticiones, σ^2_e es la variancia del error que expresa la variación ambiental entre repeticiones y σ^2_f es la variancia genética existente entre las familias de medios hermanos. Tanto σ^2_e como σ^2_f fueron estimados para cada carácter y tratamiento a partir de la esperanza de los cuadrados medios (ECM), donde: σ^2_e= ECM error y σ^2_f= (ECM genotipo - ECM error) / nº repeticiones. Esta metodología de estimación de la heredabilidad es válida únicamente para las FMH, por lo que quedan excluidas las estimaciones para el cultivar y el ecotipo.

5.8. Correlaciones fenotípicas

El conocimiento de las asociaciones entre caracteres de interés agronómico es importante para aplicar selección. La asociación entre dos caracteres que pueden ser directamente observados es la correlación de valores fenotípicos o correlación fenotípica, determinada a través de la medición de dos caracteres en un número de individuos de la población (Falconer y Mackay, 1996). Los cálculos fueron realizados con el programa estadístico Infostat/R mediante el coeficiente de correlación de Pearson, el cual mide la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de los caracteres originales y asume valores en el intervalo [-1;1] y el signo indica la dirección de la asociación.

5.9. Índice de tolerancia

El índice de tolerancia nos permite estimar el efecto sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, cuando las mismas están expuestas a condiciones estresantes.

Se calculó el índice de tolerancia de cada genotipo para los caracteres peso seco aéreo y peso seco total para los tratamientos S1 y S2 (salinidad elevada y muy elevada, respectivamente), según la siguiente formula:

ITPSA = PSA tratamiento (S1 o S2) / promedioPSA control

ITPSTotal = PSTotal tratamiento (S1 o S2) / promedioPSTotal control

5.10. Análisis multivariado

Los análisis multivariados que se aplicaron fueron: Análisis Jerarquizado (Clúster) y Análisis de Componentes Principales mediante el programa estadístico Infostat/R. El Análisis de Componentes Principales se basa en la transformación de un conjunto de caracteres cuantitativos originales en otro conjunto de caracteres independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo es poder condensar la información, en unas pocas componentes principales que expliquen la mayor variabilidad. El Análisis Jerarquizado es una técnica de agrupamiento que se basa en las similitudes o distancias entre las observaciones o caracteres. Para ello se utilizó como medida de distancia Euclídea. Los resultados del agrupamiento se pueden observar a través de un dendograma y el método empleado fue el de promedio (*Average Linkage*).

6. RESULTADOS

6.1. Comportamiento promedio de los genotipos

En la Tabla 3 se muestra la media del germoplasma evaluado para cada una de las variables analizadas, y en Anexo 1.0 se presentan los estadísticos descriptivos para cada una de ellas.

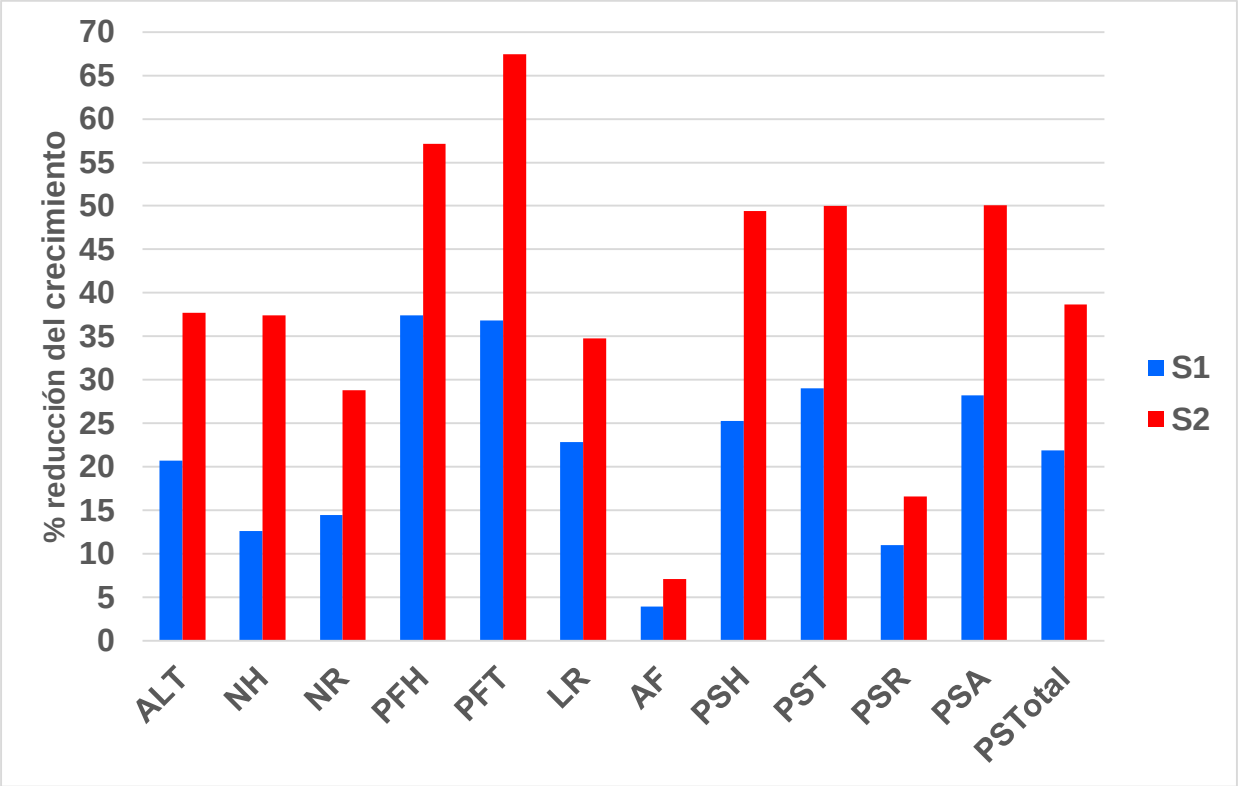
Tabla 3. Comportamiento promedio del germoplasma de *M. albus* en ensayo hidropónico.

Carácter/Genotipo	2	5	6	14	18	LAS	ELD
ALT (cm)	18,8	22,5	21,2	20,6	23,8	21,8	19,8
NH	13,2	15,3	19,2	19,0	25,2	13,7	8,5
NR	3,3	3,9	4,3	5,0	5,5	3,9	2,5
PFH (g)	4,9	6,0	7,0	6,6	5,8	5,6	7,0
PFT (g)	1,5	2,2	2,7	2,6	1,8	1,7	2,7
LR (cm)	40,9	34,7	35,4	32,9	42,3	38,5	35,4
Verdor	58,8	51,6	55,4	47,6	50,6	52,7	49,8
AF (cm^2)	133,4	126,0	141,3	129,2	144,1	139,8	128,8
PSH (g)	0,8	1,0	1,1	1,1	1,0	0,9	1,2
PST (g)	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5
PSR (g)	0,9	1,0	0,9	1,0	1,2	0,8	0,6
PSA (g)	1,1	1,5	1,7	1,6	1,4	1,3	1,8
PSTotal (g)	2,0	2,5	2,5	2,6	2,6	1,9	2,5
Relación H/T	3,7	2,7	2,5	3,1	3,6	3,7	2,9

6.2. Efecto de los tratamientos

La salinidad redujo el crecimiento de las plantas expuestas a las distintas concentraciones salinas; sin embargo, se observó mayor reducción del crecimiento en el tratamiento S2 (360 mM) que en S1 (210 mM), respecto del control (Tabla 4 y Figura 4).

Figura 4. Reducción del crecimiento (en porcentaje) respecto del control por efecto de los tratamientos salinos S1 (210 mM NaCl) y S2 (360 mM NaCl) para los caracteres evaluados.



En el análisis anterior, no se tuvieron en cuenta las variables SPAD y la relación H/T debido a que el verdor en general fue mayor en los tratamientos salinos respecto del control (Figura 15); la relación H/T mostro valores muy dispares entre tratamientos y genotipos (Figura 22).

Tabla 4. Reducción del crecimiento (en porcentaje) respecto del control por efecto de la concentración salina (tratamiento S1 y S2) para los caracteres evaluados en los 7 genotipos de *M. albus*.

		Genotipo						
Caractér	**Tratamiento**	**2**	**5**	**6**	**14**	**18**	**LAS**	**ELD**
ALT	S1	33,3	17,8	22,5	26,0	11,2	8,7	25,5
ALT	S2	46,7	32,1	32,2	38,4	36,1	34,5	43,8
NH	S1	20,8	6,1	19,9	20,7	0,0	3,1	17,8
NH	S2	37,6	29,2	25,7	41,7	40,5	38,9	48,4
NR	S1	28,1	0,0	9,7	0,0	11,6	12,1	39,6
NR	S2	48,3	0,0	14,0	15,4	12,4	30,8	80,9
PFH	S1	50,2	34,3	45,2	42,0	28,9	22,0	39,0
PFH	S2	66,5	48,5	54,8	53,9	57,6	53,1	65,5
PFT	S1	62,9	32,7	51,9	69,4	29,2	11,8	0,0
PFT	S2	77,5	57,3	65,3	78,9	70,1	57,9	65,0
LR	S1	12,7	25,2	24,1	16,1	39,5	25,8	16,2
LR	S2	20,2	37,5	32,6	38,0	36,0	48,3	30,5
AF	S1	5,1	5,9	0,0	6,8	0,0	7,2	2,6
AF	S2	0,0	15,8	5,7	18,1	0,2	9,8	0,0
PSH	S1	40,5	21,3	33,8	30,4	14,7	9,8	26,4
PSH	S2	60,3	39,3	46,6	45,3	50,4	44,6	59,1
PST	S1	47,9	5,9	33,8	56,7	2,0	0,0	57,0
PST	S2	64,6	33,3	47,9	67,8	53,1	35,9	47,3
PSR	S1	7,5	0,0	3,1	6,5	0,0	42,7	17,3
PSR	S2	27,4	19,3	22,4	0,0	10,8	0,0	36,0
PSA	S1	42,6	17,2	33,8	40,8	11,2	7,9	43,7
PSA	S2	62,1	37,9	46,6	57,1	51,1	42,4	53,0
PSTotal	S1	29,1	9,9	22,7	30,2	2,7	21,1	37,5
PSTotal	S2	48,7	30,1	41,5	39,0	34,5	25,6	51,4

Tabla 5. Medias y error estándar de los caracteres evaluados en los tres tratamientos de concentración salina para cada genotipo de *Melilotus albus*. Letras distintas entre filas y entre columnas en cada carácter indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).

		Germoplasma						
Carácter	**Tratamiento**	**2**	**5**	**6**	**14**	**18**	**LAS**	**ELD**
ALT	**C**	25,7 ± 0,95 D	27,0 ± 0,95 D	25,9 ± 0,95 D	26,3 ± 0,95 D	28,3 ± 0,97 D	25,3 ± 0,95 D	25,8 ± 1,13 D
	S1	17,1 ± 0,95 B	22,1 ± 0,95 C	20,1 ± 0,95 B	19,4 ± 0,95 B	25,1 ± 0,97 D	23,1 ± 0,95 C	19,2 ± 1,13 B
	S2	13,7 ± 0,95 A	18,3 ± 0,95 B	17,6 ± 0,95 B	16,2 ± 0,95 B	18,1 ± 0,97 B	16,6 ± 0,97 B	14,5 ± 1,13 A
NH	**C**	16,3 ± 1,08 C	17,3 ± 1,08 C	22,6 ± 1,08 D	23,9 ± 1,08 D	30,5 ± 1,11 E	16,1 ± 1,08 C	15,6 ± 1,30 C
	S1	12,9 ± 1,08 B	16,2 ± 1,08 C	18,1 ± 1,08 C	19,0 ± 1,08 C	30,8 ± 1,11 E	15,6 ± 1,06 C	12,9 ± 1,30 B
	S2	10,2 ± 1,08 A	12,2 ± 1,08 B	16,8 ± 1,08 C	13,9 ± 1,08 B	18,1 ± 1,11 C	9,8 ± 1,11 A	8,1 ± 1,30 A
NR	**C**	4,4 ± 0,31 C	3,8 ± 0,31 C	4,6 ± 0,31 C	5,2 ± 0,31 D	6,0 ± 0,32 D	4,5 ± 0,31 C	4,1 ± 0,37 C
	S1	3,2 ± 0,31 B	4,0 ± 0,31 C	4,2 ± 0,31 C	5,3 ± 0,31 D	5,3 ± 0,32 D	4,0 ± 0,31 C	2,5 ± 0,37 B
	S2	2,3 ± 0,31 B	3,9 ± 0,31 C	4,0 ± 0,31 C	4,4 ± 0,31 C	5,2 ± 0,32 D	3,1 ± 0,31 B	0,8 ± 0,37 A
PFH	**C**	8,0 ± 0,55 C	8,1 ± 0,55 C	9,8 ± 0,55 D	9,8 ± 0,65 D	8,5 ± 0,68 C	7,4 ± 0,55 C	10,6 ± 0,77 D
	S1	4,0 ± 0,55 A	5,3 ± 0,55 B	5,4 ± 0,68 B	5,7 ± 0,55 B	6,1 ± 0,56 B	5,8 ± 0,55 B	6,4 ± 0,77 B
	S2	2,7 ±0,55 A	4,2 ± 0,63 A	4,4 ± 0,63 A	4,5 ± 0,68 A	3,6 ± 0,56 A	3,5 ± 0,55 A	3,6± 0,77 A
PFT	**C**	2,8 ± 0,26 C	3,0± 0,26 C	4,1 ± 0,26 D	5,3 ± 0,31 E	2,8 ± 0,32 C	2,3 ± 0,26 B	5,3 ± 0,44 E
	S1	1,0 ± 0,26 A	2,0 ± 0,26 B	2,0 ± 0,32 B	1,6 ± 0,26 B	2,0 ± 0,26 B	2,0 ± 0,26 B	1,7 ± 0,36 B
	S2	0,6 ± 0,26 A	1,3 ± 0,30 B	1,4 ± 0,30 B	1,1 ± 0,35 A	0,8 ± 0,26 A	1,0 ± 0,26 A	1,9 ± 0,44 B
LR	**C**	45,9 ± 1,98 C	43,9 ± 1,98 C	43,7 ± 1,98 C	40,0 ± 1,98 C	56,5 ± 2,03 D	51,1 ± 1,98 D	41,9 ± 2,36 C
	S1	40,1 ± 1,98 C	32,8 ± 1,98 B	33,2 ± 1,98 B	33,6 ± 1,98 B	34,2 ± 2,03 B	37,9 ± 1,98 B	35,1 ± 2,36 B
	S2	36,6 ± 1,98 B	27,4 ± 1,98 A	29,4 ± 1,98 A	24,8 ± 1,98 A	36,2 ± 2,03 B	26,4 ± 1,98 A	29,2 ± 2,36 A
VERDOR	**C**	57,2 ± 1,16 C	49,6 ± 1,16 B	49,2 ± 1,16 B	46,7 ± 1,16 A	45,7 ± 1,16 A	50,3 ± 1,16 B	45,5 ± 1,16 A
	S1	60,7 ± 1,16 C	53,5 ± 1,27 B	58,1 ± 1,16 C	50,9 ± 1,16 B	53,1 ± 1,16 B	58,5 ± 1,16 C	51,6 ± 1,16 B
	S2	58,5 ± 1,16 C	52,2 ± 1,16 B	58,8 ± 1,16 C	45,4 ± 1,16 A	53,1 ± 1,16 B	49,2 ± 1,16 B	52,1 ± 1,27 B

Tabla 5 (cont.). Medias y error estándar de los caracteres evaluados en los tres tratamientos de concentración salina para cada genotipo de *Melilotus albus*. Letras distintas entre filas y entre columnas en cada carácter indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).

		Germoplasma						
Carácter	**Tratamiento**	**2**	**5**	**6**	**14**	**18**	**LAS**	**ELD**
AF	**C**	132,3 ± 5,75 B	134,6 ± 5,75 B	143,7 ± 5,75 B	140,8 ± 5,75 B	144,2 ± 5,75 B	148,2 ± 5,75 B	128,3 ± 6,31 B
	S1	125,6 ± 6,31 B	126,6 ± 6,31 B	144,7 ± 5,75 B	131,3 ± 5,75 B	144,3 ± 5,75 B	137,5 ± 5,75 B	124,9 ± 5,75 B
	S2	141,2 ± 5,75 B	113,3 ± 7,07 A	135,5 ± 5,75 B	115,3 ± 5,75 A	143,9 ± 5,75 B	133,7 ± 5,75 B	134,8 ± 6,31 B
PSH	**C**	1,2 ± 0,09 B	1,2 ± 0,09 B	1,5 ± 0,09 C	1,5 ± 0,10 C	1,3± 0,11 B	1,1 ± 0,09 B	1,6 ± 0,12 C
	S1	0,7 ± 0,09 A	1,0 ± 0,09 B	1,0 ± 0,11 B	1,0 ± 0,09 B	1,1 ± 0,09 B	1,0 ± 0,09 B	1,2 ± 0,12 B
	S2	0,5 ± 0,09 A	0,7 ± 0,10 A	0,8 ± 0,10 A	0,8 ± 0,11 A	0,6 ± 0,09 A	0,6 ± 0,09 A	0,6 ± 0,09 A
PST	**C**	0,5 ± 0,05 B	0,5 ± 0,05 B	0,7 ± 0,05 C	0,9 ± 0,06 D	0,5 ± 0,06 B	0,4 ± 0,05 B	0,9 ± 0,09 D
	S1	0,2 ± 0,05 A	0,5 ± 0,05 B	0,5 ± 0,06 B	0,4 ± 0,05 B	0,5 ± 0,05 B	0,5 ± 0,05 B	0,4 ± 0,07 B
	S2	0,2 ± 0,05 A	0,3 ± 0,06 B	0,4 ± 0,06 B	0,3 ± 0,07 A	0,2 ± 0,05 A	0,2 ± 0,05 A	0,5 ± 0,09 B
PSR	**C**	1,1 ± 0,08 B	1,1 ± 0,08 B	1,0 ± 0,12 B	1,1 ± 0,12 B	1,2 ± 0,08 B	0,8 ± 0,12 A	0,7 ± 0,11 A
	S1	1,0 ± 0,08 B	1,1 ± 0,08 B	1,0 ± 0,12 B	1,0 ± 0,12 B	1,3 ± 0,08 B	0,5 ± 0,12 A	0,6 ± 0,10 A
	S2	0,8 ± 0,08 A	0,9 ± 0,08 B	0,8 ± 0,12 A	1,2 ± 0,12 B	1,1 ± 0,08 B	0,9 ± 0,12 B	0,5 ± 0,09 A
PSA	**C**	1,7 ± 0,12 B	1,7 ± 0,12 B	2,2 ± 0,12 C	2,4 ± 0,14 C	1,8 ± 0,14 B	1,5 ± 0,12 B	2,8 ± 0,20 D
	S1	1,0 ± 0,12 A	1,4 ± 0,12 B	1,4 ± 0,15 B	1,4 ± 0,12 B	1,6 ± 0,12 B	1,4 ± 0,12 B	1,6 ± 0,16 B
	S2	0,6 ± 0,12 A	1,1 ± 0,13 A	1,2 ± 0,13 A	1,0 ± 0,16 A	0,9 ± 0,12 A	0,9 ± 0,12 A	1,3 ± 0,20 B
PSTotal	**C**	2,7 ± 0,18 B	2,8 ± 0,18 B	3,1 ± 0,25 B	3,4 ± 0,21 C	3,0 ± 0,22 B	2,2 ± 0,25 A	3,5 ± 0,30 C
	S1	2,0 ± 0,18 A	2,5 ± 0,18 B	2,4 ± 0,25 B	2,4 ± 0,18 B	2,9 ± 0,18 B	1,8 ± 0,26 A	2,2 ± 0,25 A
	S2	1,4 ± 0,18 A	2,0 ± 0,20 A	1,8 ± 0,25 A	2,1 ± 0,24 A	1,9 ± 0,18 A	1,7 ± 0,25 A	1,7 ± 0,30 A
RelaciónH/T	**C**	3,0 ± 0,43 A	2,9 ± 0,43 A	2,2 ± 0,43 A	1,6 ± 0,51 A	3,3 ± 0,53 A	4,7 ± 0,43 B	2,5 ± 0,73 A
	S1	4,3 ± 0,43 B	2,1± 0,43 A	2,3 ± 0,53 A	3,4 ± 0,43 A	3,1 ± 0,44 A	2,6 ± 0,43 A	3,0 ± 0,61 A
	S2	3,1 ± 0,43 A	2,5 ± 0,50 A	2,3 ± 0,50 A	3,2 ± 0,58 A	3,4 ± 0,44 A	3,0 ± 0,43 A	2,0 ± 0,73 A

6.3. Respuesta de los genotipos a los tratamientos

6.3.1. Altura de planta (ALT)

Para esta variable no existió interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO (p=0.052), indicando una respuesta similar de los genotipos a los tratamientos impuestos. Independientemente del tratamiento analizado, las FMH 18 tuvo la mayor altura, mientras que el cultivar El Domador y la FMH 2 se diferenciaron significativamente por menor ALT (Figura 5 y Tabla 5). En la figura 6 se observa que la altura fue menor con el incremento de la concentración salina.

Figura 5. Altura de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina. Las barras indican medias y desvío estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).

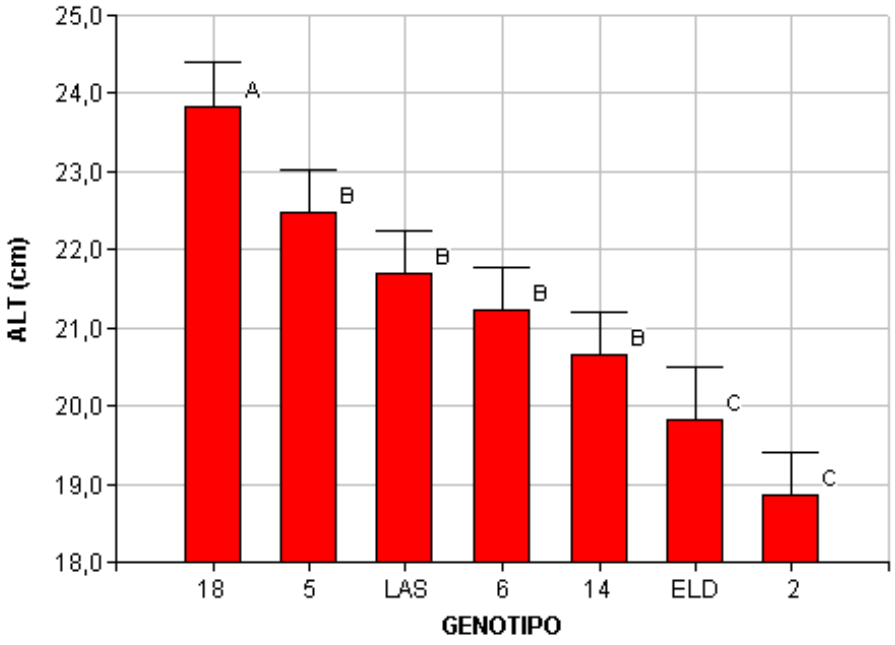
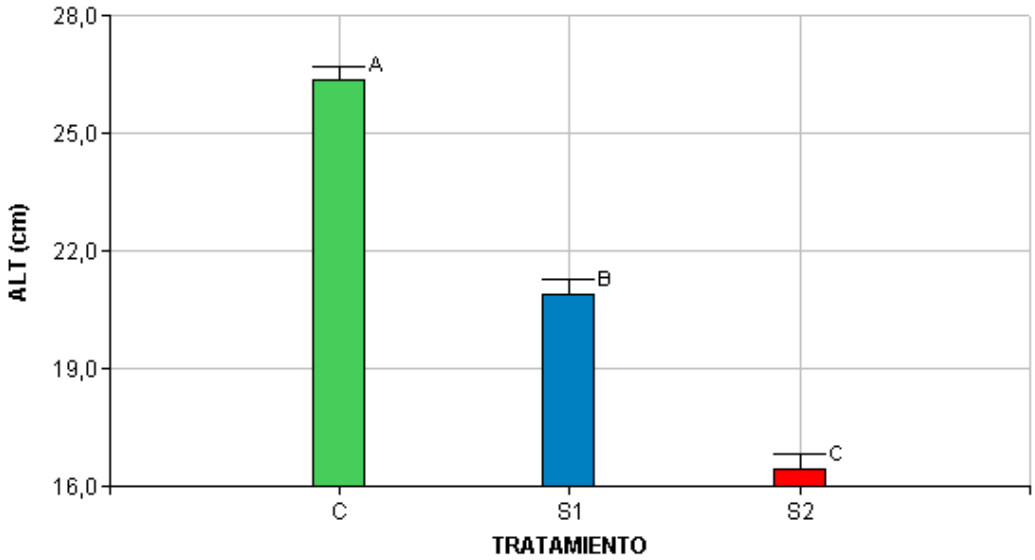


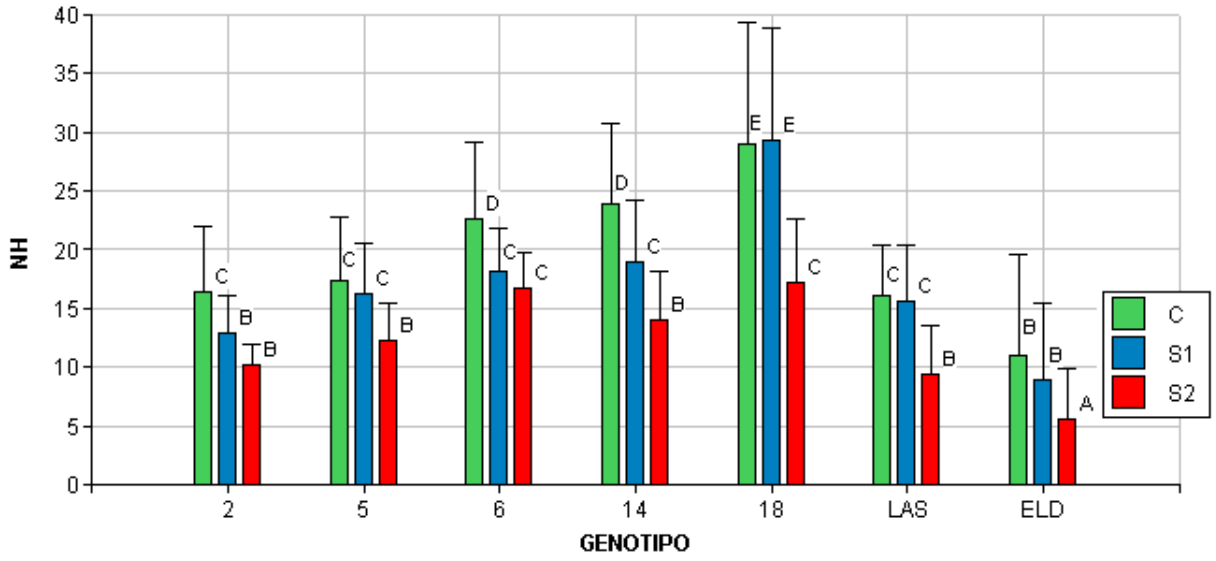
Figura 6. Altura de los tratamientos de concentración salina. Las barras indican medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).



6.3.2. Número de hojas (NH)

Para esta variable la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO fue significativa (p=0,006). La FMH 18 logró el mayor número de hojas tanto en el tratamiento control como S1, mientras que en S2 se diferenciaron las FMH 6 y 18 por mayor NH y el cultivar “El Domador MAG” obtuvo el menor valor (Figura 7 y Tabla 5).

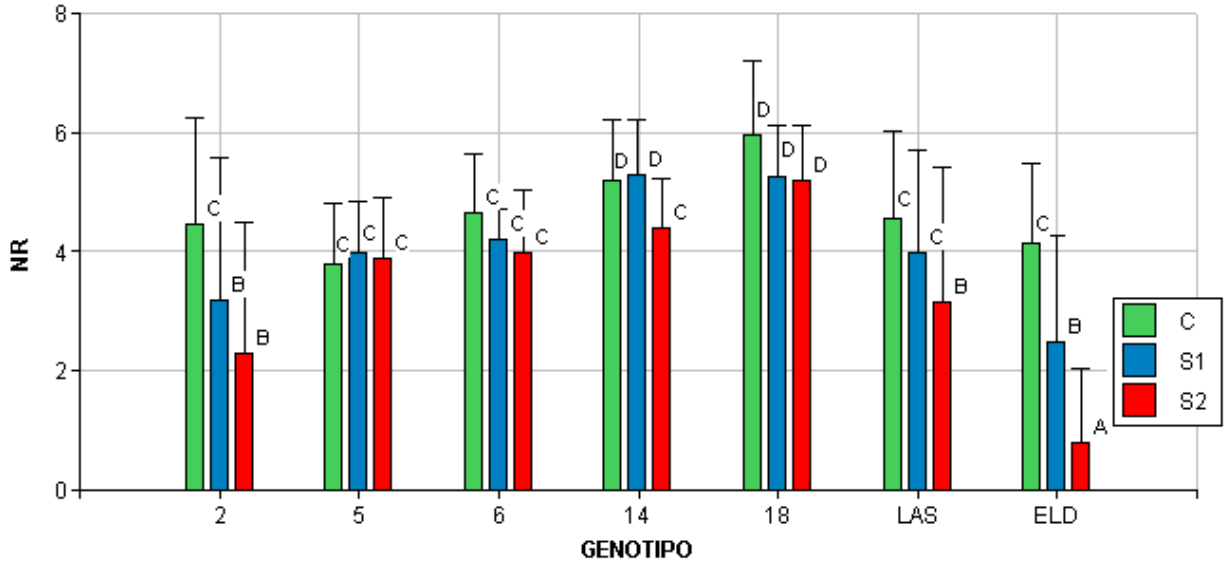
Figura 7. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para NH en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.3. Número de ramas (NR)

Para esta variable la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO fue significativa (p=0,0004). En los tres tratamientos, la FMH 18 logro el mayor NR; y en el tratamiento S2 el cultivar ELD mostro el menor valor (Figura 8 y Tabla 5).

Figura 8. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para NR en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.4. Peso fresco y seco de hoja (PFH y PSH)

Para ambas variables no se detectó interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO (p=0,2354 y p=0,2779, respectivamente). La FMH 2 se diferenció significativamente para ambas variables por presentar el menor peso de hoja (Figuras 9 y 10). Para ambas variables, se observa una reducción significativa del peso de hoja con el aumento de la concentración salina (Figura 11).

Figura 9. Peso fresco de hoja de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina. Las barras indican medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).

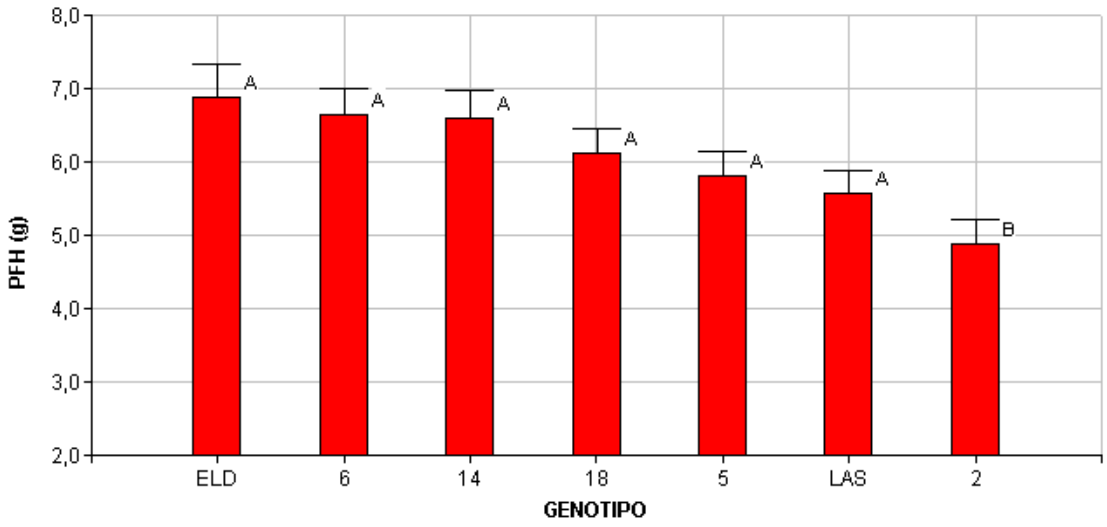


Figura 10. Peso seco de hoja de los genotipos evaluados en los tres tratamientos de concentración salina. Las barras indican medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).

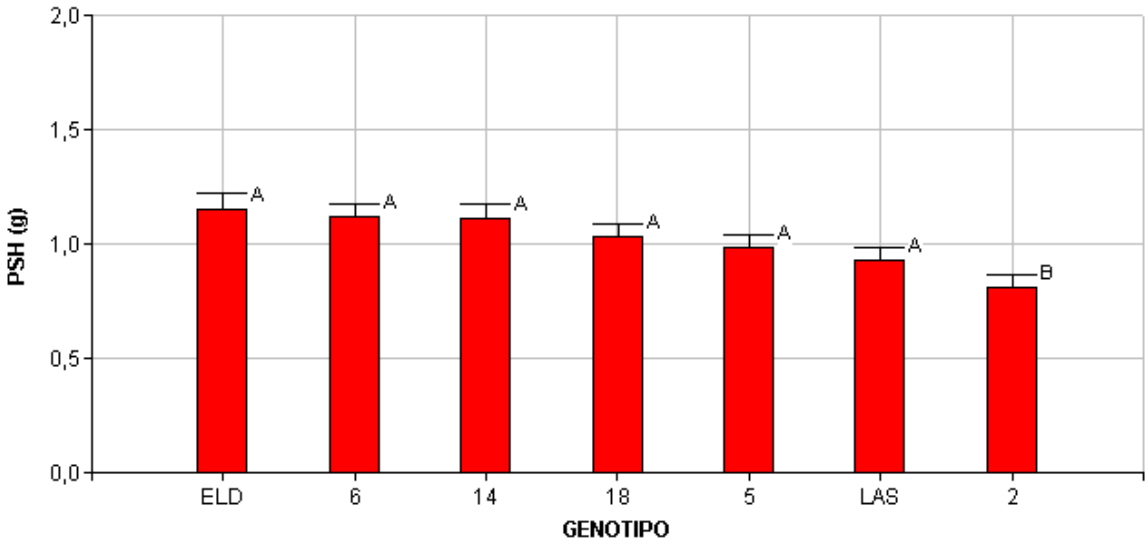
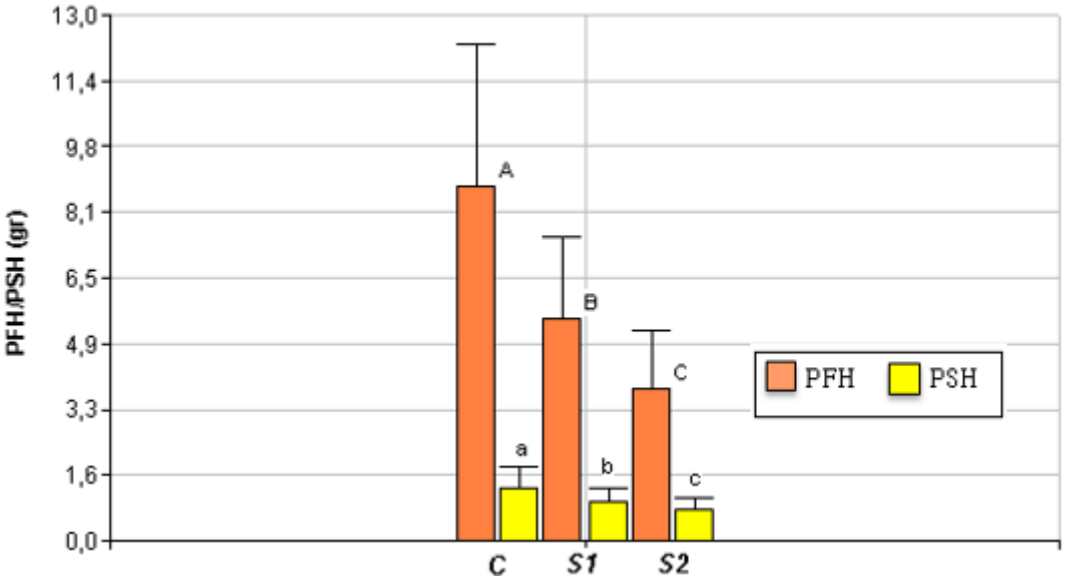


Figura 11. Peso fresco y seco de hoja según los tratamientos de concentración salina. Las barras representan medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba de DGC).



6.3.5. Peso fresco y seco de tallo (PFT y PST)

Ambas variables mostraron interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO ($p<0,0002$ y $p<0,0001$, respectivamente). Para la variable PFT se observa una marcada reducción del crecimiento en los tratamientos salinos, especialmente en el de 360 mM. En los tratamientos control de ambas variables, se diferenciaron por mayor peso de tallo la FMH 14 y ELD. LA FMH 2 tuvo un pobre desempeño en ambos tratamientos salinos (Figura 12). Al igual que para PFT, el PST evidencio una merma de crecimiento con los tratamientos salinos. No se detectaron diferencias entre los tratamientos salinos para el grupo de las FMH 2, 5, 6 y el cultivar ELD (Figura 13).

Figura 12. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PFT (g) en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).

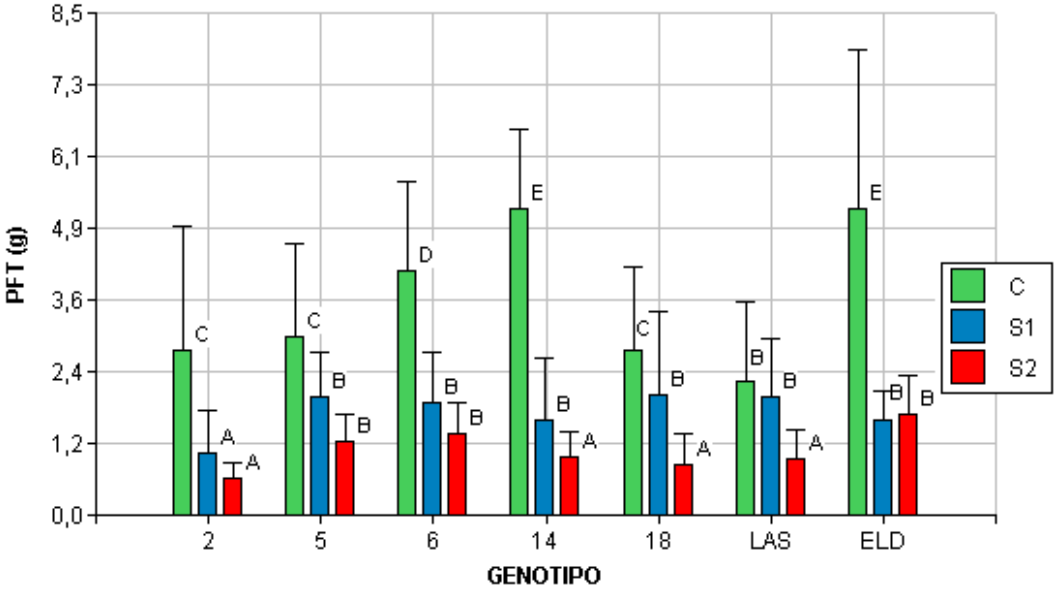
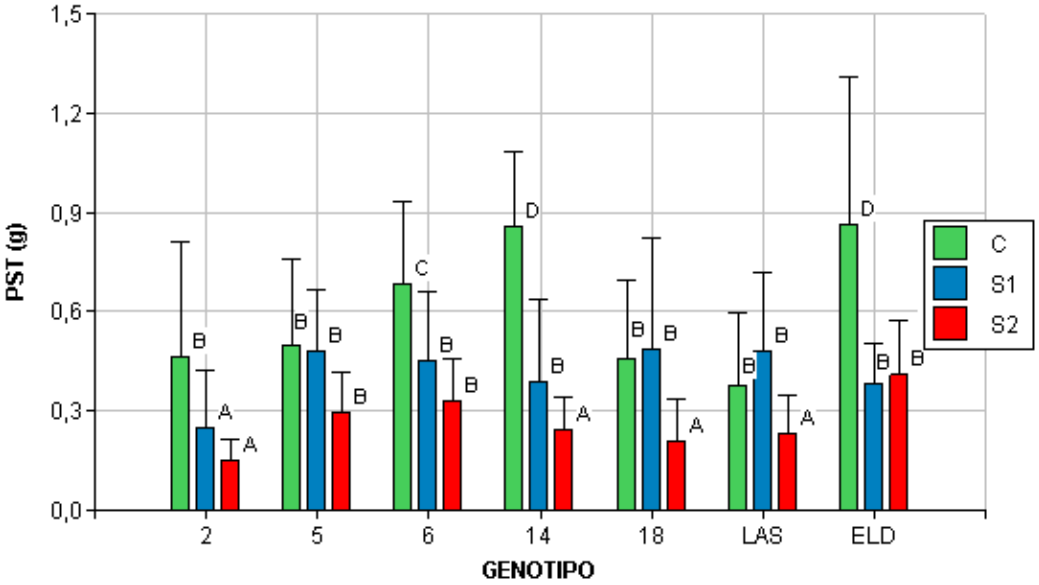


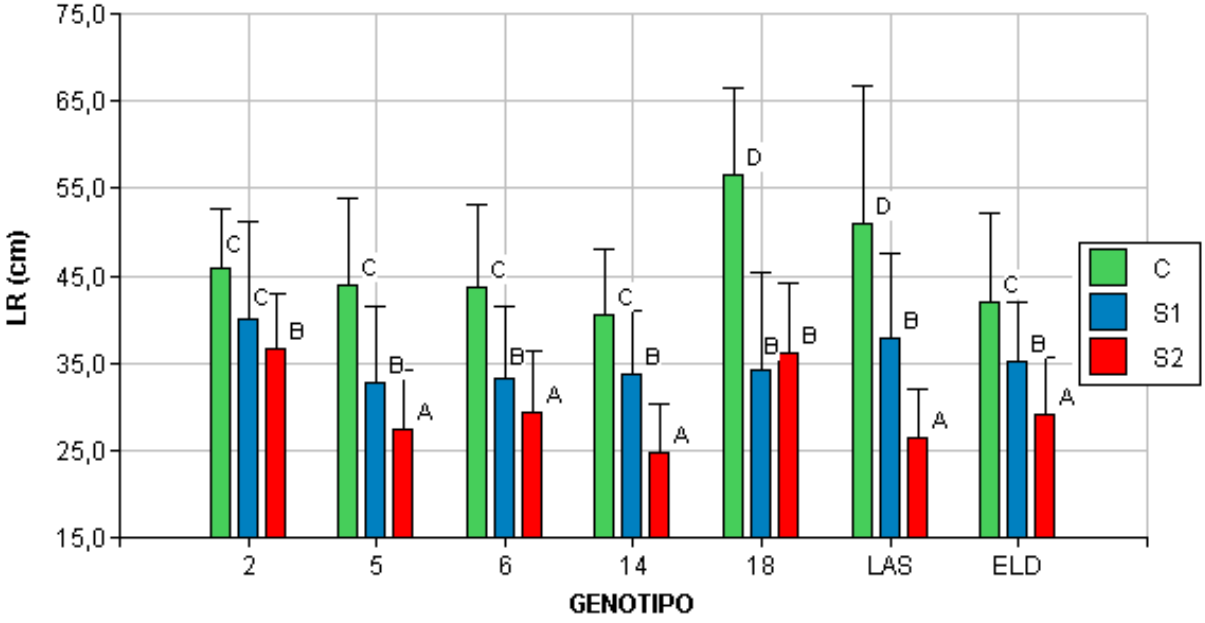
Figura 13. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PST (g) en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.6. Longitud de raíz (LR)

Para esta variable la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO fue significativa (p=0,0004). En el tratamiento control se destacaron la FMH 18 y el ecotipo LAS. La FMH 2 fue superior en ambos tratamientos salinos junto con la FMH 18 en el tratamiento de 360 mM (Figura 14 y Tabla 5).

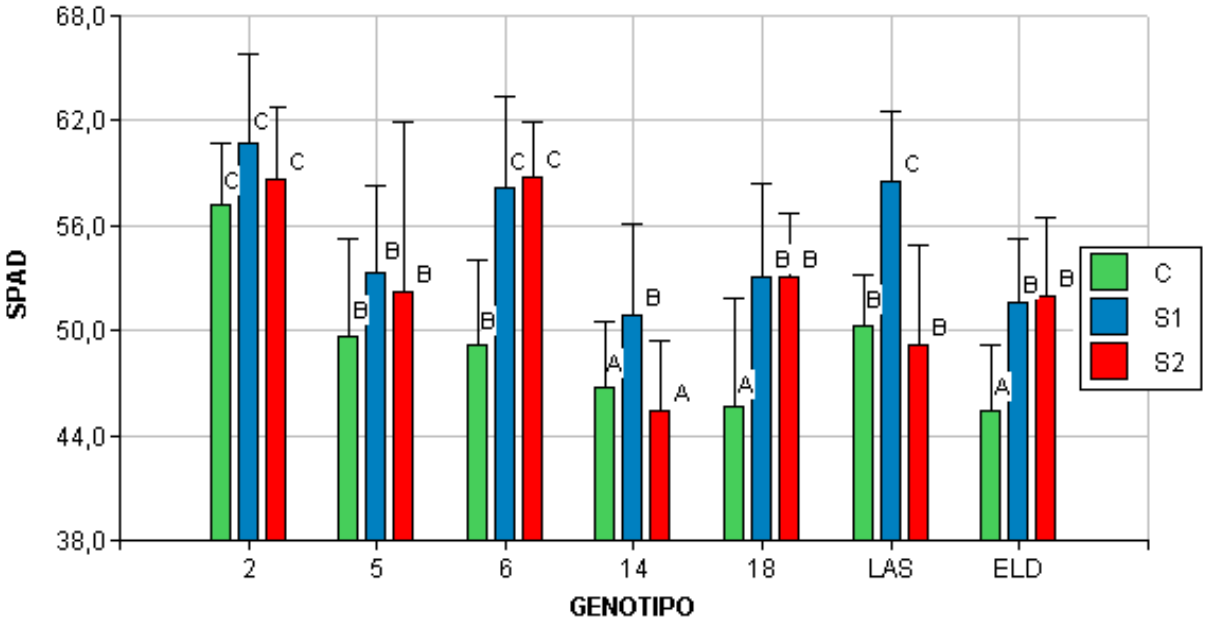
Figura 14. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para LR (cm) en los distintos tratamientos de concentración salina.



6.3.7. Índice de verdor (Spad)

Se observó para esta variable interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO (p<0,0004). En términos generales se puede observar mayor verdor en los tratamientos salinos respecto del control. Comparando los tratamientos salinos, solo hubo diferencias significativas en la FMH 14 y el ecotipo LAS. La FMH 2 mostro altos valores de verdor para todos los tratamientos (Figura 15 y Tabla 5).

Figura 15. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para verdor (SPAD) en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.8. Área foliar (AF)

No se evidencio diferencias significativas (p=0,0909) para la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO en esta variable. Las FMH 18, 6 y el ecotipo LAS se diferenciaron estadísticamente por mayor área foliar (Figura 16 y Tabla 5 cont.). En la figura 17 se puede observar una disminución significativa del AF en los tratamientos salinos respecto del control, aunque no se evidencio diferencias entre S1 y S2.

Figura 16. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para AF (cm^2). Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).

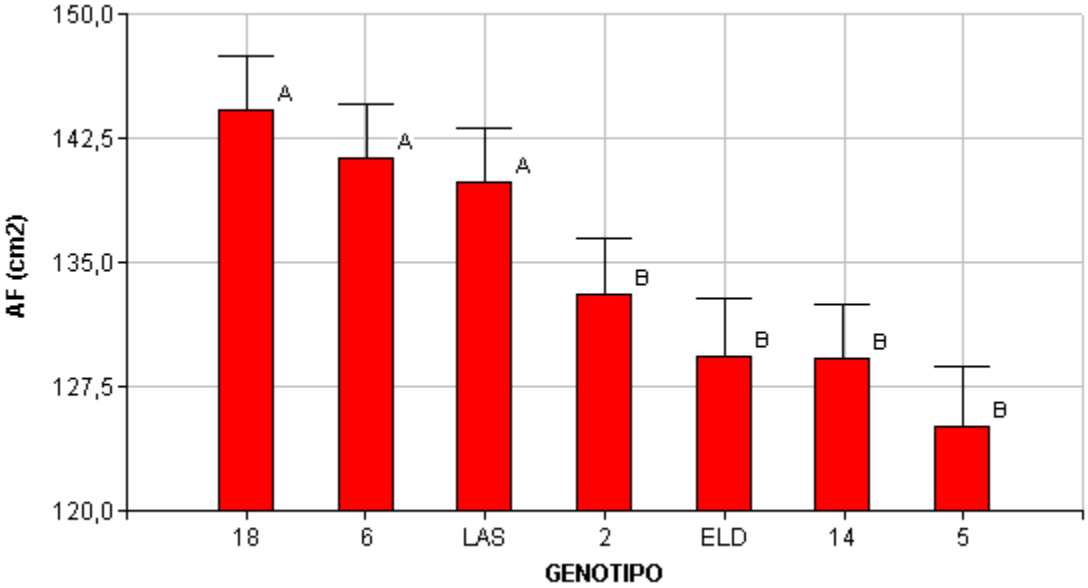
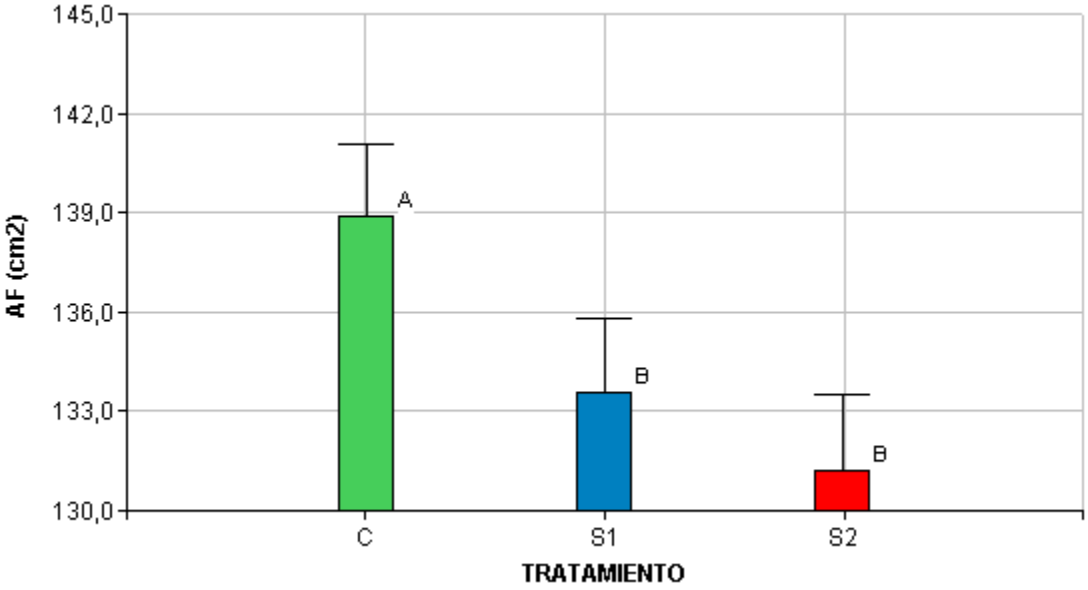


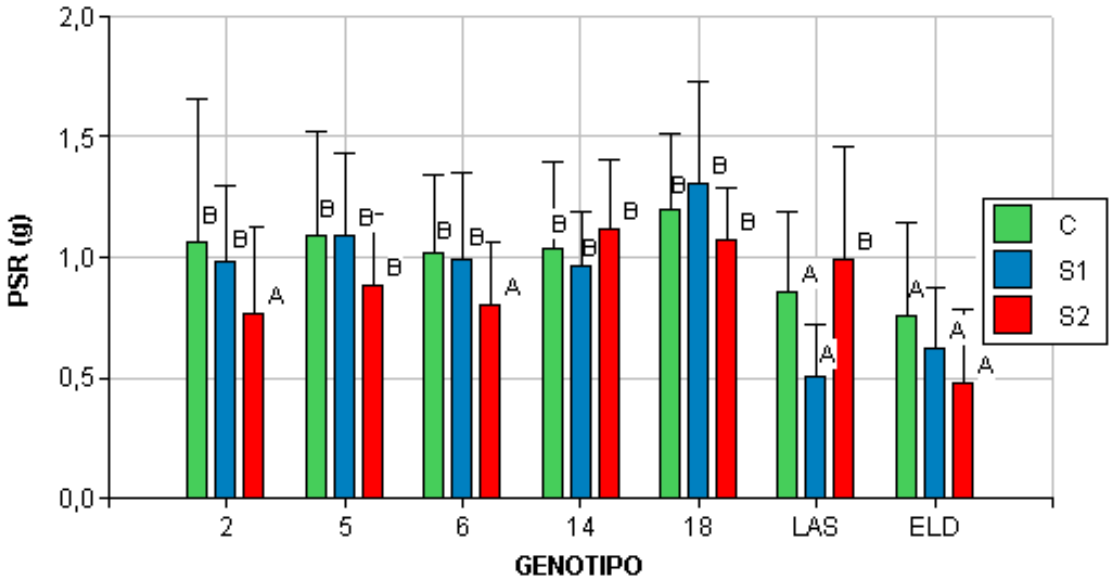
Figura 17. Área foliar según los tratamientos de concentración salina. Las barras indican medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.9. Peso seco de raíz (PSR)

Para esta variable se determinó una interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO significativa (p=0,0189). Por un lado, se detectaron genotipos (FMH 5, 14, 18 y ELD) que no presentaron una respuesta frente a la salinidad. La FMH 2 y 6 redujeron el PSR en el tratamiento S2. El ecotipo LAS evidenció un aumento en 360 mM respecto del control; de igual modo la FMH 18 en el tratamiento S1 tiende a superar en PSR al control; sin embargo, esta diferencia no es significativa (Figura 18 y Tabla 5 cont.).

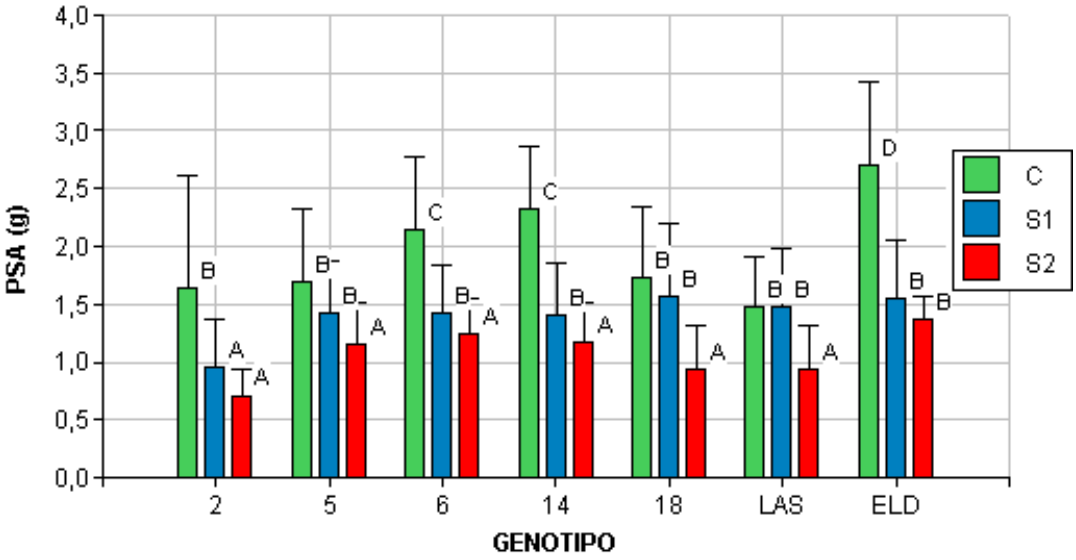
Figura 18. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PSR (g) en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.10. Peso seco aéreo (PSA)

Esta variable evidencio interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO (p=0,0020). ELD logro el mayor PSA tanto en el tratamiento control como S2. Analizando las familias, la FMH 2 presentó el menor PSA en el tratamiento de 210 Mm; en el tratamiento control se destacaron las FMH 6 y 14, mientras que la FMH 5 y 18 no mostraron una merma significativa en el PSA al comparar el control con el tratamiento S1 (Figura 19 y tabla 5 cont.).

Figura 19. Comportamiento promedio y desvío estándar de cada genotipo para PSA (g) en los distintos tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.11. Peso seco total (PSTotal)

No se encontró interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO (p=0,1603) para esta variable, lo que indica una respuesta similar de los genotipos a los tratamientos. Independientemente de los tratamientos, la FMH 18, 14, 6 y 5 lograron un mayor PSTotal (Figura 20). La salinidad redujo el PSTotal en ambos tratamientos, respecto del control (Figura 21).

Figura 20. Peso seco total (g.) según los genotipos. Las barras indican medias y desvió estándar. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).

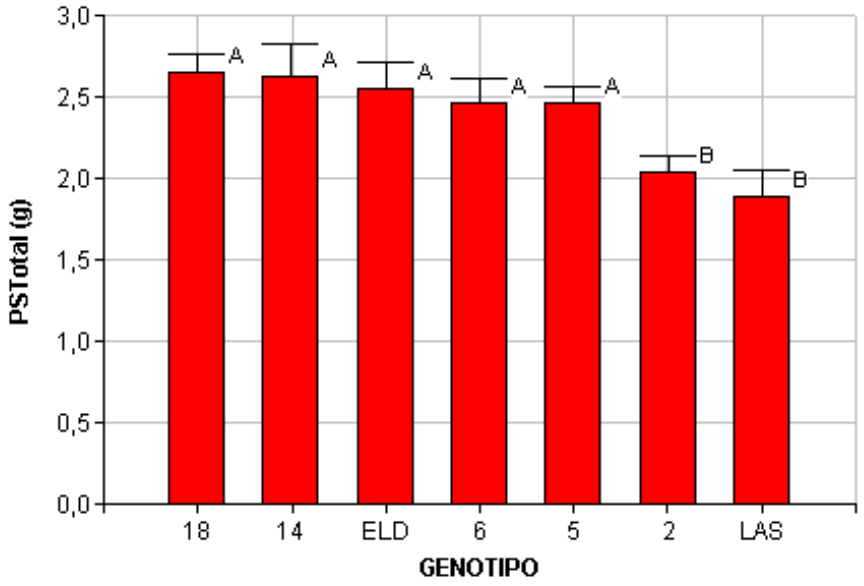
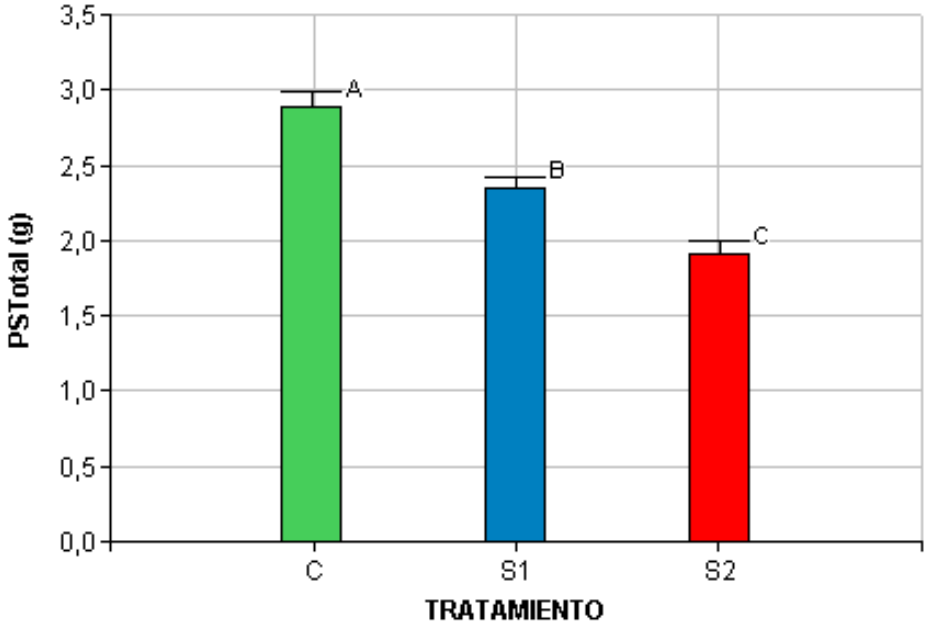


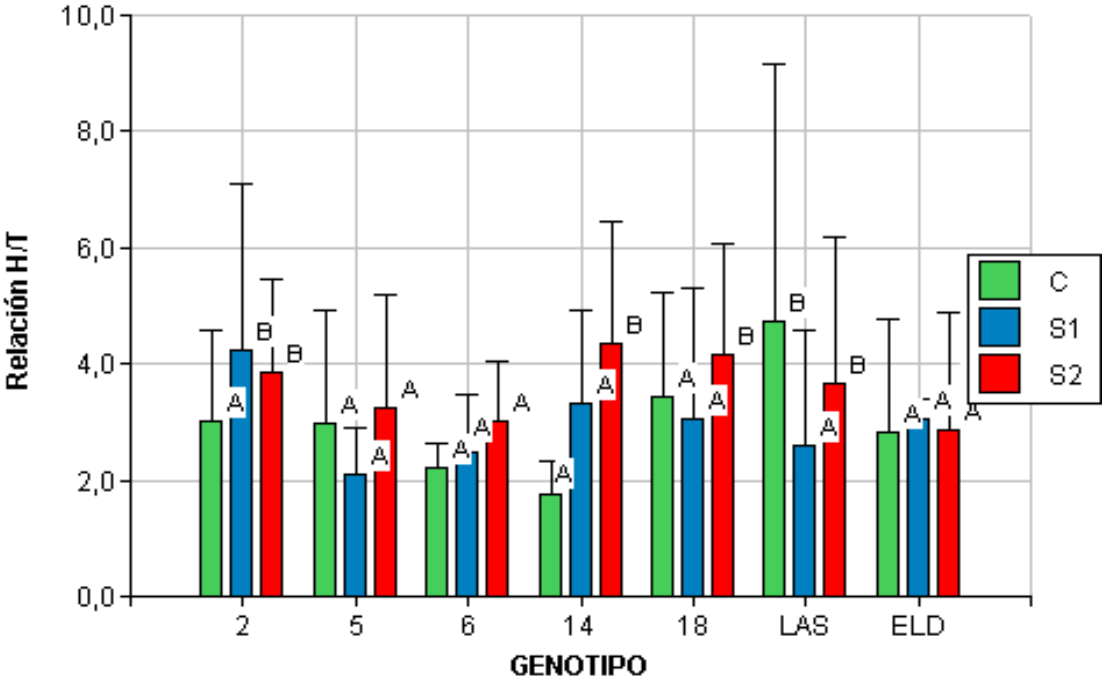
Figura 21. Promedio de los tratamientos de concentración salina para PSTotal. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.3.12. Relación hoja/tallo (Relación H/T)

Para esta variable la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO fue significativa (p=0,0031). En el tratamiento control se destacó el ecotipo LAS, y la FMH 2 en el S1. Considerando el tratamiento S2, se pueden destacar las FMH 2, 14 y 18, y el ecotipo LAS (Figura 22 y Tabla 5 cont.).

Figura 22. Relación H/T promedio según los genotipos y tratamientos de concentración salina. Letras distintas indican diferencias significativas al 0,05 (Prueba DGC).



6.4. Estimación de parámetros genéticos

En la siguiente tabla se presentan los parámetros genéticos (varianza ambiental, varianza genética familiar y heredabilidad en sentido estricto) para cada uno de los caracteres estudiados, particionado por tratamiento y estimado solo para las FMH.

Tabla 6. Componentes de varianza: varianza ambiental (σ^2_e), varianza familiar (σ^2_f) y heredabilidad (h^2) para cada carácter en los distintos tratamientos de concentración salina.

	V. ambiental (σ^2_e)			**V. familiar (σ^2_f)**			**Heredabilidad (h^2)**		
Carácter	**C**	**S_1**	**S_2**	**C**	**S_1**	**S_2**	**C**	**S_1**	**S_2**
ALT	28,40	14,11	9,37	0	81,29	31,15	0	0,92	0,86
NH	43,49	22,75	10,60	295,58	434,86	98,19	0,93	0,97	0,95
NR	1,58	1,50	1,50	9,22	7,23	10,48	0,92	0,91	0,93
PFH	12,58	3,33	1,62	1,30	4,46	5,09	0,17	0,73	0,86
PFT	2,75	0,99	0,19	7,28	1,18	0,74	0,84	0,70	0,88
LR	78,66	83,47	46,33	325,34	48,69	252,62	0,89	0,54	0,92
Verdor	24,24	27,04	29,45	170,88	131,54	259,65	0,93	0,91	0,95
AF	224,27	337,13	158,15	0	79,05	467,03	0	0,32	0,85
PSH	0,29	0,11	0,05	0,025	0,145	0,165	0,15	0,73	0,87
PST	0,08	0,06	0,01	0,21	0,07	0,06	0,84	0,68	0,92
PSR	0,20	0,12	0,08	0	0,11	0,14	0	0,65	0,77
PSA	0,54	0,24	0,09	0,53	0,41	0,345	0,66	0,77	0,88
PSTotal	1,28	0,47	0,24	0	0,86	0,51	0	0,78	0,81
Relación H/T	1,95	3,81	1,99	2,44	4,72	0,63	0,71	0,71	0,39

De acuerdo con Stanfield (1971), los caracteres se consideraron de heredabilidad alta cuando ésta es mayor a 0,50, de heredabilidad media entre 0,20 y 0,50, y de heredabilidad

baja si esta es menor a 0,20. Siguiendo éste criterio, en el tratamiento C (control) las heredabilidades altas se obtuvieron para NH, NR, PFT, LR, Verdor (SPAD), PST, PSA y Relación H/T; fue baja para ALT, PFH, AF, PSH, PSR y PSTotal. Del mismo modo, en el tratamiento S1 (210 mM) todos los caracteres presentaron heredabilidades altas, excepto AF que presentó una heredabilidad media. Para el tratamiento S2 (360 mM) todos los caracteres mostraron heredabilidades altas excepto el carácter relación H/T que resulto con una heredabilidad media.

6.5. Correlaciones fenotípicas

En la tabla 9 se presentan las correlaciones fenotípicas entre algunos caracteres. Se observa que las correlaciones fueron altamente significativas ($p<0,001$) para todas las combinaciones. En términos generales se observa una correlación media-alta (0,5-0,9) para los distintos pesos secos. Hay una correlación media (mayor a 0,5) entre NH y ALT (r=0,551), NR y NH (r=0,550), PSH y ALT (r=0,616), PSH y NH (r=0,626), PST y ALT (r=0,505), entre PST y PSH (r=0,649), entre PSR y NH (r=0,626),entre PSR y PSH (r=0,512), entre PSA y ALT (r=0,626), entre PSA y NH (r=0,585), entre PSTotal y ALT (r=0,611) y entre PSTotal y NH (r=0,668).

Tabla 7. Coeficiente de correlación de Pearson y nivel de significancia entre caracteres. Por encima de la diagonal se encuentran las significaciones estadísticas y bajo la diagonal se encuentran los valores de correlación entre los caracteres.

	ALT	NH	NR	LR	PSH	PST	PSR	PSA	PSTotal
ALT	1,000	***	***	***	***	***	***	***	***
NH	0,551	1,000	***	***	***	***	***	***	***
NR	0,299	0,550	1,000	***	***	***	***	***	***
LR	0,407	0,355	0,225	1,000	***	***	***	***	***
PSH	0,616	0,626	0,409	0,386	1,000	***	***	***	***
PST	0,505	0,397	0,237	0,221	0,649	1,000	***	***	***
PSR	0,386	0,626	0,435	0,282	0,512	0,219	1,000	***	***
PSA	0,626	0,585	0,364	0,360	0,951	0,850	0,437	1,000	***
PSTotal	0,611	0,668	0,442	0,366	0,911	0,723	0,749	0,923	1,000

Nota: ***: valores de significancia <0,001.

6.6. Índice de tolerancia a la salinidad

En la tabla 10, se presentan los valores de índice de tolerancia a la salinidad para ambos tratamientos salinos. Como se observa, los índices de tolerancia para peso seco aéreo y para peso seco total disminuyen con el aumento de la concentración salina, lo que se traduce en una merma del crecimiento de las plantas a medida que aumenta el estrés por sales.

Tabla 8. Índice de tolerancia según genotipo y tratamiento salino para peso seco aéreo y peso seco total.

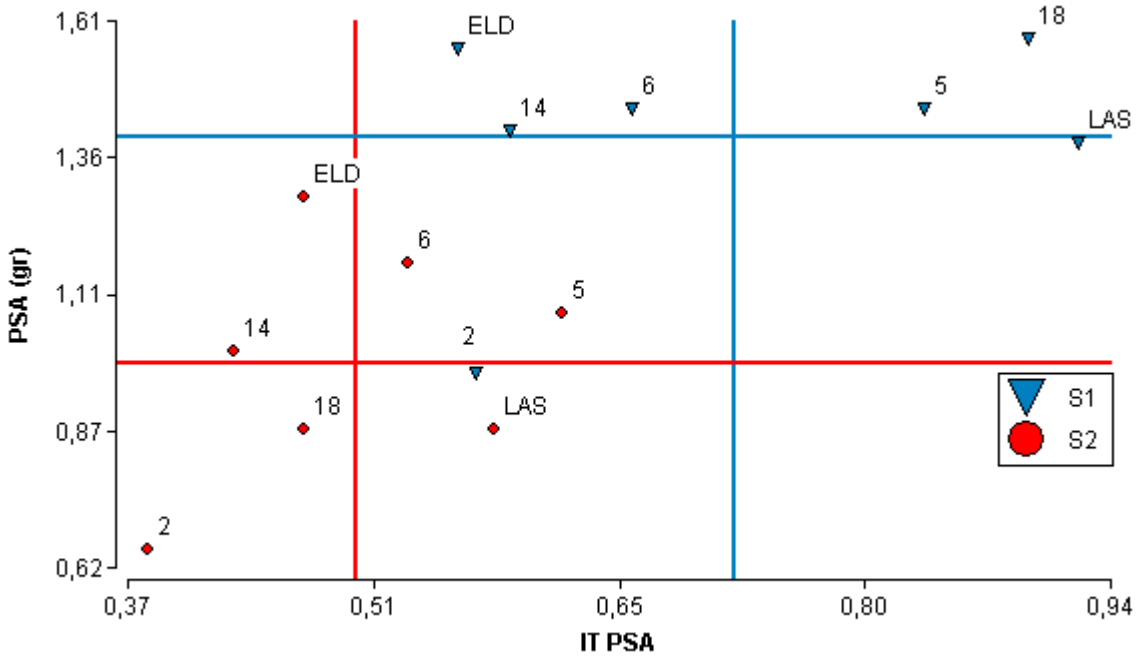
GENOTIPO	TRATAMIENTO	ITPSA	ITPSTotal
2	S1	0,57	0,71
	S2	0,38	0,51
5	S1	0,83	0,90
	S2	0,62	0,71
6	S1	0,66	0,77
	S2	0,53	0,59
14	S1	0,59	0,69
	S2	0,43	0,61
18	S1	0,89	0,97
	S2	0,47	0,65
LAS	S1	0,92	0,80
	S2	0,58	0,75
ELD	S1	0,56	0,62
	S2	0,47	0,49

La FMH 18, 5 y el ecotipo “La Sarita” son los genotipos más tolerantes, mientras que el cultivar “El Domador MAG” y la FMH 2 son los más afectados por la salinidad.

6.7. Relación entre la productividad y la tolerancia a la salinidad

Mediante un diagrama de dispersión se pretendió observar, de manera más clara, los genotipos con elevada productividad y, a su vez, elevada tolerancia a la salinidad, considerando el peso seco aéreo (PSA) y el peso seco total (PSTotal=PSA+PSR) para cada uno de los genotipos en ambos tratamientos salinos (Figuras 19 y 20). Se graficó de manera conjunta la relación entre el índice de tolerancia y la productividad para S1 (azul) y S2 (rojo); las líneas de corte en cada eje representan las medias entre los genotipos, siendo en el eje X los valores medios de ITPSA e ITPSTotal, y en el eje Y las medias de PSA y PSTotal, según cada condición salina.

Figura 23. Relación entre ITPSA y el PSA para ambos tratamientos salinos (S1 y S2).



A partir de la Figura 19 se obtiene la siguiente información por tratamiento:

S1:

-Alta productividad y alta tolerancia: 18, 5 y LAS.

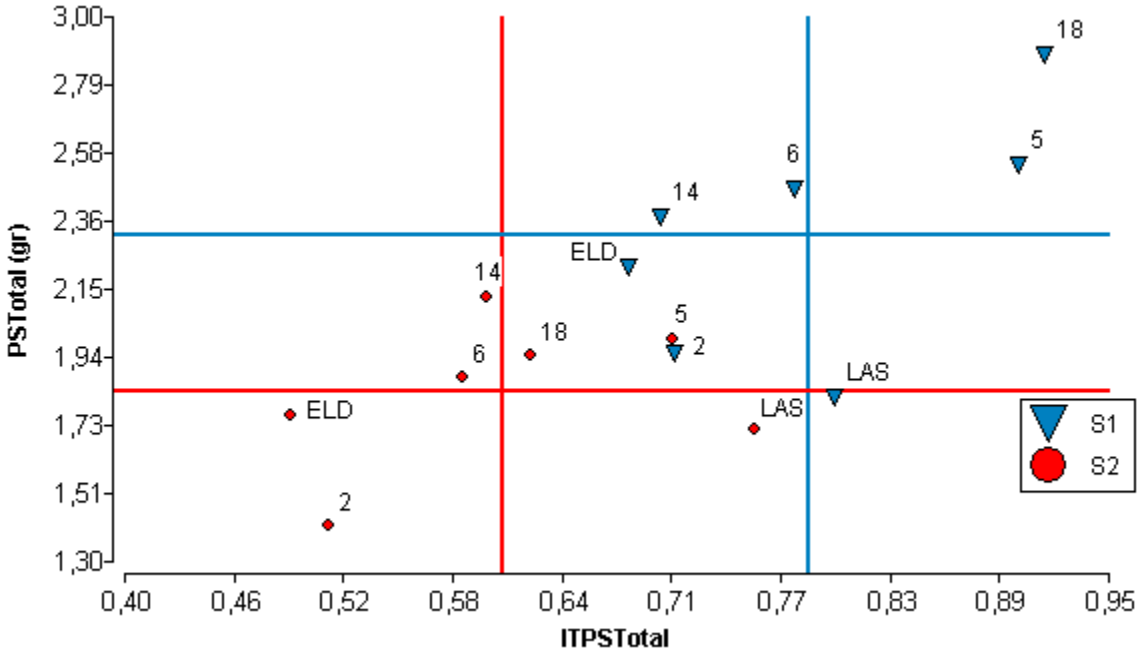
-Baja productividad y baja tolerancia: 2.

S2:

-Alta productividad y alta tolerancia: 5 y 6.

-Baja productividad y baja tolerancia: 2 y 18.

Figura 24. Relación entre ITPSTotal y el PSTotal para ambos tratamientos salinos (S1 y S2).



A partir de la Figura 20 se obtiene la siguiente información por tratamiento:

S1:

-Alta productividad y alta tolerancia: 18 y 5.

-Baja productividad y baja tolerancia: ELD y 2.

S2:

-Alta productividad y alta tolerancia: 5 y 18.

-Baja productividad y baja tolerancia: ELD y 2.

Como se observa en las figuras, dependiendo del peso seco aéreo o del peso seco total (aéreo y raíces) la tolerancia de los genotipos en ambas concentraciones salinas varía. En el caso del índice de tolerancia calculado sobre el peso seco aéreo, el rango de respuesta de los

genotipos varía entre 0,38 y 0,92 (Tabla 10), destacándose por mayor tolerancia las FMH 5, 18, 6 y el ecotipo “La Sarita”. Cuando se considera el índice calculado sobre el peso seco total de los genotipos creciendo en ambas concentraciones salinas, se destacan las FMH 18 y 5.

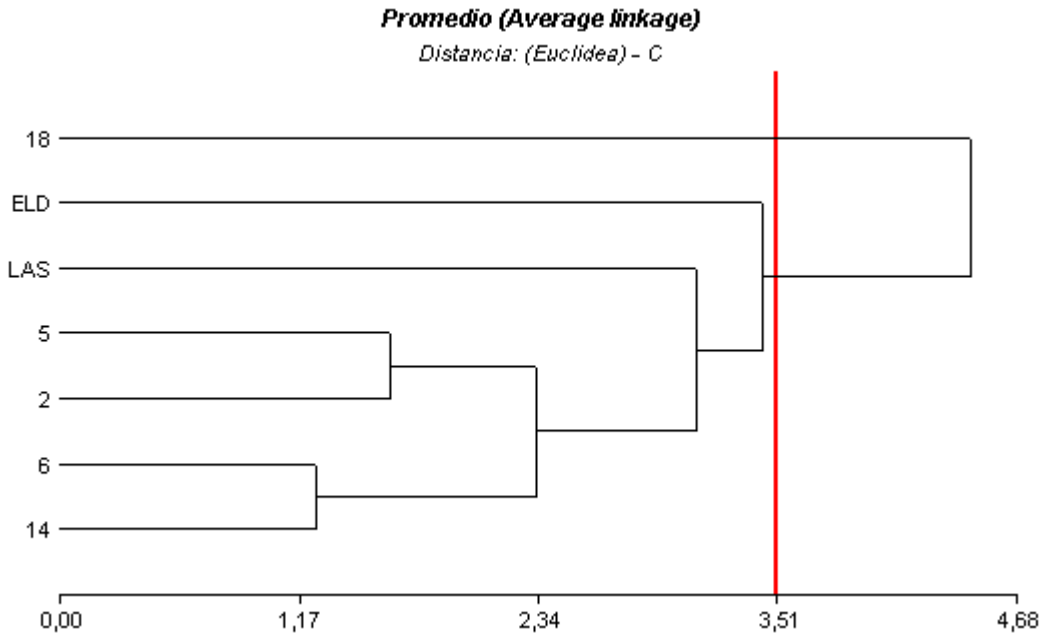
Las FMH 5 y 18 son superiores en cuanto a productividad y tolerancia, y en sentido opuesto la FMH 2 se caracteriza por una baja productividad y tolerancia a salinidad.

6.8. Análisis de clúster jerárquico

A continuación, se muestran los resultados del análisis de clúster, para los tres tratamientos por separado (Figuras 21, 22 y 23) para las variables: ALT, NR, LR, PSA, PSR y PSTotal. En las tres graficas se realizó un corte arbitrario al 75% de la distancia total.

Los coeficientes de correlación cofenética para estos agrupamientos fueron las siguientes: C: 0,825; S1: 0,849; S2: 0,919.

Figura 25. Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento control.

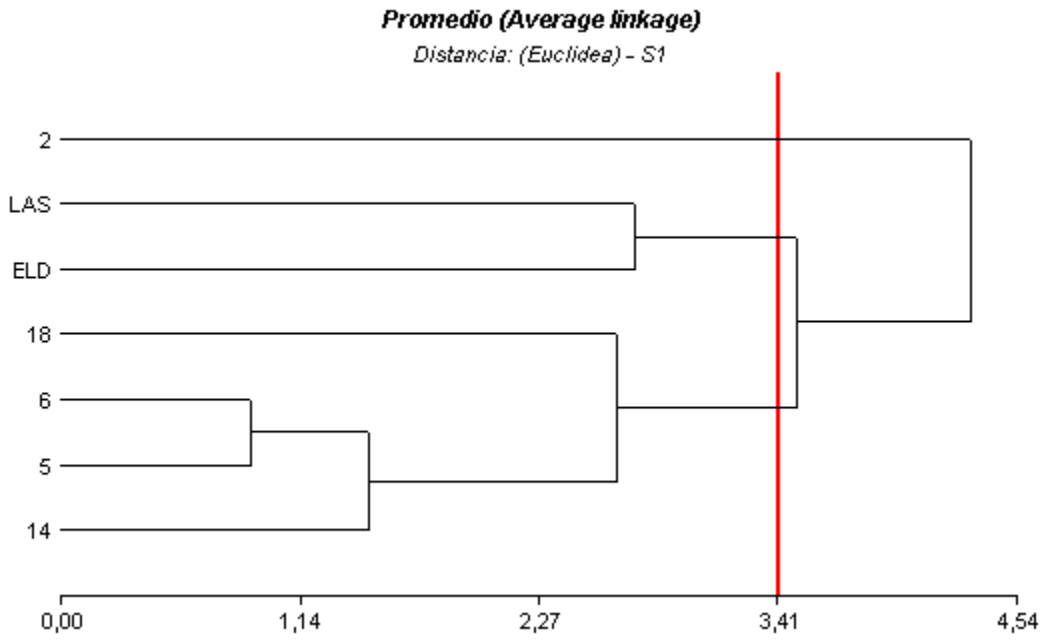


En el tratamiento control se observa que, si realizamos un corte arbitrario en 3,51 se forman 2 grupos de genotipos:

Grupo 1: 14, 6, 2, 5, LAS y ELD.

Grupo 2: 18.

Figura 26. Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento salino 1.



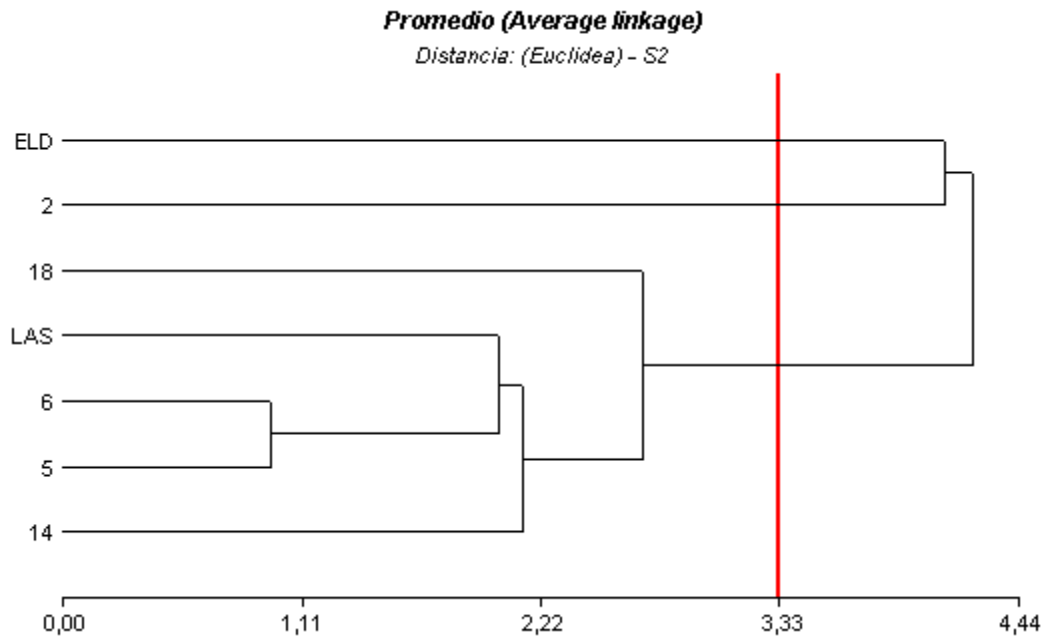
En el análisis del tratamiento salino 1, se observa que, si realizamos un corte arbitrario en 3,41, se forman 3 grupos de genotipos:

Grupo 1: 14, 5, 6, 18.

Grupo 2: ELD, LAS.

Grupo 3: 2.

Figura 27. Análisis de clúster jerárquico para el tratamiento salino 2.



En el Clúster para el S2, realizando un corte arbitrario en 3,33 se forman 3 grupos:

Grupo 1: 14, 5, 6, LAS, 18.

Grupo 2: 2.

Grupo 3: ELD.

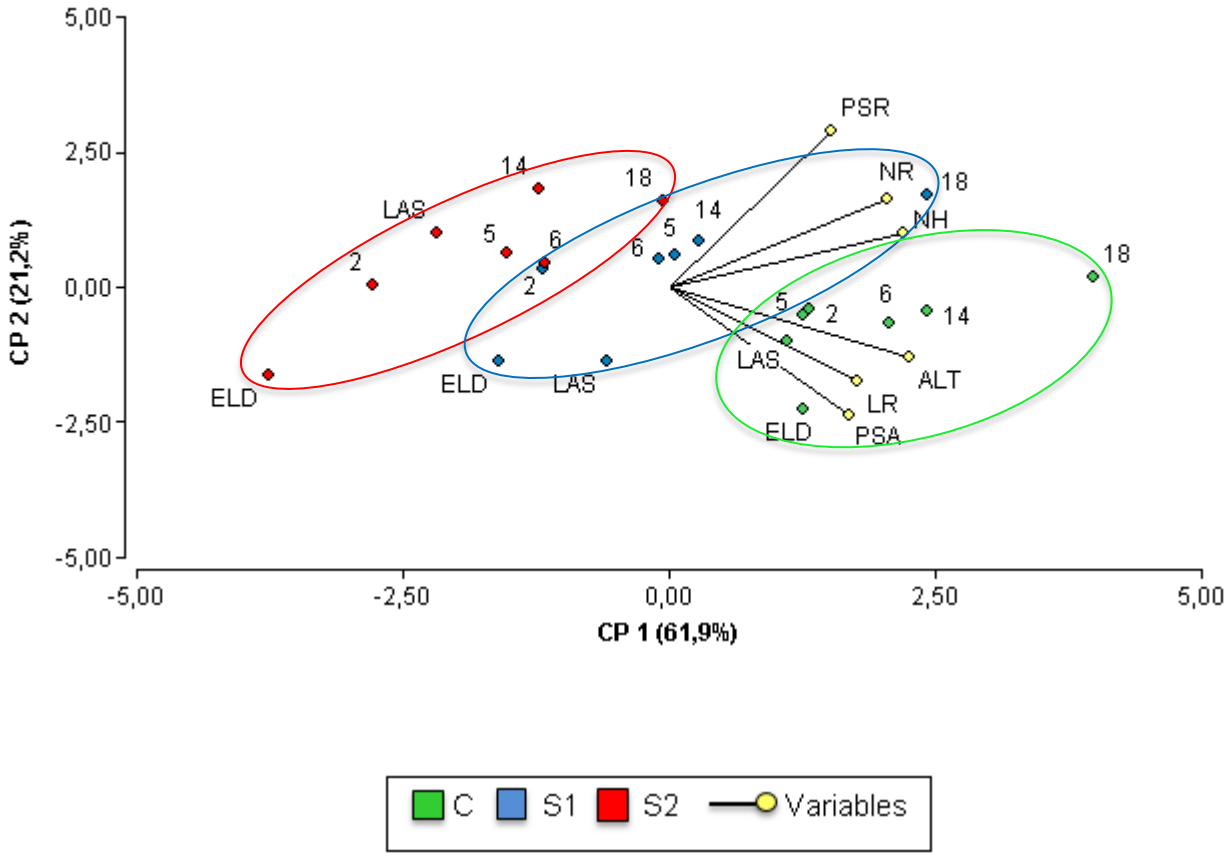
6.9. Análisis de componentes principales

Se realizó análisis de componentes principales con el objetivo de resumir y agrupar toda la información previamente analizada. Se consideraron 6 caracteres: ALT, NH, NR, LR, PSR y PSA. En la figura 24 se muestra la distribución de los genotipos y tratamientos (control, salino 1 y salino 2) a través de las componentes principales1 y 2.

La componente principal 1 explica el 61,9% de la variabilidad y la componente 2 explica el 21,2% de la variación total. Se observa un agrupamiento de los genotipos por tratamiento. Los genotipos evaluados en condición control se asocian a valores positivos en cuanto a los 6

caracteres evaluados, mientras los genotipos sometidos a los tratamientos S1 y S2 se asocian a valores negativos. Respecto a la componente principal 1, el carácter que explicó mayoritariamente su variabilidad fue ALT. Mientras la variabilidad de la componente principal 2, fue explicada mayormente por PSR.

Figura 28. Análisis de los componentes principales para ALT, NH, NR, LR, PSR y PSA, utilizando como criterios de clasificación los genotipos y los tratamientos.



7. DISCUSIÓN

En los programas de mejoramiento genético es importante detectar la existencia de variabilidad genética en el germoplasma de la especie considerada, debido a que esto permite la selección y posterior obtención de cultivares (Ceccarelli, 2015). A través del presente estudio se confirmó la hipótesis que indica que el crecimiento inicial de genotipos de *Melilotus albus* expuestos a condiciones de salinidad, expresa variabilidad genética aditiva. Dicha variabilidad se expresó tanto en caracteres relacionados con el establecimiento de la pastura, como también en caracteres de importancia para la producción de forraje.

En términos generales, los resultados obtenidos indicaron que la salinidad produjo una reducción significativa en el crecimiento inicial de todas las plantas respecto de la condición control. La mayor reducción se observó en las plantas sometidas al tratamiento S2 (360 mM) respecto a S1 (210 mM), pero no se produjo mortandad (Figura 4 y Tabla 4). Estos resultados coinciden con los informados en otras especies forrajeras, evaluadas en condiciones de salinidad en hidroponía. Las investigaciones en agropiro alargado (Borrajo y Reigosa Roger, 2008; Maciel, 2019), *Festuca arundinacea* (Saccoccia, 2020) y en *Lotus tenuis* (Franco, 2014; Franco Elisei, 2018), demostraron que el efecto de diferentes concentraciones de NaCl en estado vegetativo temprano en poblaciones naturalizadas y en familias de medio hermanos, produjeron mayores reducciones del crecimiento con el incremento de la concentración salina, es decir, el estrés impuesto (Shannon, 1997; Munns, 2002 y Pompeiano *et al*., 2014). Otros estudios demostraron que poblaciones de *Melilotus albus*, presentan variabilidad genética alta debido al sistema reproductivo predominante, y la elevada plasticidad de la especie, que hace que se adapte a una gran variedad de ambientes, desde los suelos francos con aptitud agrícola hasta los marginales caracterizados por presentar elevados contenidos de sales y sodio (Tyler *et al*., 1987; Andrés, 2006; López *et al*., 2016; Zabala *et al.,* 2018).

Si bien la mayoría de los genotipos redujeron su crecimiento con el incremento de la concentración salina, existieron diferencias significativas entre las familias, el cultivar y el ecotipo, en cada uno de los tratamientos aplicados, en la mayoría de las variables estudiadas.

Otros estudios realizados en FMH de *Thinopyrum ponticum* (Acuña *et al*., 2017; Maciel, 2019) y en FMH de *Lotus tenuis* (Franco Elisei, 2018) mostraron un comportamiento diferencial para las variables analizadas dependiendo del tratamiento salino impuesto.

Al comparar el comportamiento de las familias, el cultivar y el ecotipo, no se evidenciaron diferencias en las variables de crecimiento como altura, peso fresco y seco de hoja, área foliar y peso seco total. Contrariamente la interacción GENOTIPO*TRATAMIENTO fue significativa para el resto de las variables; para número de hojas y de ramas (NH y NR), se destacó la FMH 18 en todos los tratamientos (Figura 7 y 8); para longitud de raíz principal (LR) se destacan las FMH 2 y 18 en los tratamientos salinos (Figura 14).

Por otro lado, al analizar los PSR, PSA y PSTotal, el ecotipo “La Sarita” y el cultivar “El Domador MAG” lograron el menor peso seco de raíz en el tratamiento control y en S1; y las FMH 5, 14 y 18 se comportaron indiferentes al aumento de la salinidad para dicha variable (Figura 18); tanto en la condición control como 360 mM, se destacó el cultivar “El Domador MAG” por su mayor producción de biomasa aérea, mientras que la FMH 2 fue la de menor producción en el tratamiento de 210 Mm (Figura 19); para peso seco total se destacaron las FMH 5, 6 14 y 18 (Figura 20).

La variable verdor mostro una tendencia en donde se determinó mayor contenido de clorofila en las plantas sometidas a estrés salino, sin diferencias significativas entre los tratamientos salinos (Figura 15).

La consecuencia más evidente del efecto del estrés salino en las plantas es una disminución marcada en los parámetros de crecimiento, como producción de materia seca, contenido de humedad en hojas, altura de planta, longitud de ramificaciones, número de hojas, entre otras variables. En este aspecto, Maas y Hoffman (1977) sostienen que existen varios factores que influyen en la tolerancia a la salinidad en plantas en condiciones experimentales, entre ellos el genotipo, el estadio de crecimiento, el contenido de sales del sustrato y el tiempo de exposición a las sales. Por lo tanto, la existencia de variabilidad en cualquiera de estos factores determina variaciones en la tolerancia.

La relación hoja/tallo es un carácter de interés en la selección de *M. albus* en estado adulto, dado que la especie en condiciones naturales tiende a presentar una arquitectura de planta arbustiva y ello produce disminución de la calidad del forraje (Veneciano *et al.*, 1994;

Tomás *et al.,* 2016; Kent y Ruiz, 2019). En el presente estudio, los genotipos evidenciaron diferente comportamiento para el carácter según el tratamiento aplicado. En la condición control el ecotipo “La Sarita” mostró la mejor relación hoja/tallo, mientras que en 210 mM se destacó la FMH 2; en 360 mM NaCl las FMH 2,14, 18 y el ecotipo “La Sarita” lograron la mejor relación hoja/tallo (Figura 22). Estos resultados estarían indicando que la salinidad afecta la estructura de las plántulas favoreciendo la mayor proporción de hojas en los genotipos más tolerantes.

El índice de tolerancia del peso seco aéreo (ITPSA) y el índice de tolerancia del peso seco total (aéreo y raíz) (ITPSTotal), mostraron diferente rango de expresión de los genotipos en ambas concentraciones salinas. Al considerar el PSA, las FMH 18, 5, 6 y el ecotipo “La Sarita” fueron los más tolerantes (Figura 23); mientras que al considerar el PSTotal se destacaron las FMH 18 y 5 (Figura 24). En ambas situaciones, las FMH 18 y 5 demostraron la mayor tolerancia y mayor productividad, y la FMH 2 la menos tolerante y menos productiva. Estos resultados son indicativos de la elevada variación fenotípica para la tolerancia a salinidad en las diferentes familias. Este índice resultó ser un indicador muy importante que permitió discriminar a las FMH entre tolerantes y susceptibles, y puede ser de gran utilidad en la selección de genotipos (Maciel, 2019).

El presente estudio permitió estimar valores muy elevados de heredabilidad en sentido estricto para las familias, lo que indicaría que gran parte de la variación fenotípica observada es atribuible a la variación genética aditiva. Resultados similares fueron obtenidos comparando familias de medios hermanos crecidos en ambientes homogéneos donde la mayor parte de la variación fenotípica observada fue explicada por la variación genética (Guercio *et al*., 2014; Varea *et al.,* 2014). En los tratamientos S1 (210 mM NaCl) y S2 (360 mM NaCl) la mayoría de los caracteres evidenciaron heredabilidades elevadas, excepto el área foliar en S1 y la relación hoja/tallo en S2 (Tabla 6). La variabilidad expresada entre las familias en condiciones de estrés salino, es de gran utilidad cuando el componente genético heredable es factible de ser transmitido a la siguiente generación (Shannon, 1997) y por lo tanto la heredabilidad del carácter en cuestión resulta importante en la selección (Falconer, 1986). Diversos estudios muestran que la variabilidad genética presente en forrajeras ofrece la posibilidad de desarrollar

genotipos con mayor nivel de tolerancia a estrés (Smith *et al.,* 1981; Láuchi, 1984; Francois, 1988 y Maciel, 2019) y consideran que el mejor parámetro para selección de germoplasma tolerante en estas especies es la producción de materia seca y caracteres relacionados con la misma, tanto bajo condiciones control como bajo condiciones estresantes (Pesqueira, 2008 e Ixtaína y Mujica, 2010).

El presente estudio permitió discriminar a las FMH, el ecotipo y el cultivar por su tolerancia a salinidad, a pesar de ser pocos materiales los que se compararon. Las elevadas heredabilidades estimadas en los tratamientos salinos, indicarían que el sistema de evaluación de familias por su tolerancia a salinidad en condiciones de hidroponía, como el implementado en este trabajo final de grado, sería una metodología sencilla de aplicar para realizar selección en futuros programas de mejoramiento genético de la especie.

La aplicación de análisis multivariado, permitió corroborar los resultados obtenidos en los análisis univariados. En condiciones salinas se forman 3 grupos, entre los que se destacan la FMH 2 y el cultivar con el menor crecimiento y en el extremo opuesto las FMH 5, 14 y 18 con el mayor crecimiento en términos de biomasa seca. En forma similar, al aplicar análisis de componentes principales se distinguen 3 grupos que corresponden a cada tratamiento aplicado, con marcada disminución de crecimiento y variabilidad registrada para los caracteres evaluados en el estudio, a medida que aumentó la concentración salina.

8. CONCLUSIONES

- Se detectó variabilidad fenotípica y genética en la tolerancia a salinidad entre las 5 FMH, el ecotipo “La Sarita” y el cultivar “Pergamino El Domador MAG” de *Melilotus albus* creciendo en condiciones de salinidad en hidroponia.

- Se evidenció reducción del crecimiento del germoplasma con el incremento de la concentración salina, sin afectación de la sobrevivencia

- El índice de tolerancia del peso seco aéreo (ITPSA) y el índice de tolerancia del peso seco total (aéreo y raíz) (ITPSTotal), a pesar de mostrar diferente rango de expresión de los genotipos en ambas concentraciones salinas, permitieron observar un patrón de tolerancia, en el que las FMH 18 y 5 demostraron la mayor tolerancia y mayor productividad, y la FMH 2 resultó la menos tolerante y menos productiva.

- Las FMH 18 y 5 podrían incorporarse en un programa de mejoramiento genético para la obtención de cultivares tolerantes a salinidad y con buena producción de biomasa.

- La elevada variabilidad genética y la heredabilidad en sentido estricto detectada en el material en estudio permitirían realizar selección en programas de mejoramiento genético de la especie.

9. BIBLIOGRAFÍA

Aamlid, T. 1999. Location of seed production. International Herbage Seed Production Research Group. Newsletter number 30. P. 16.

Acuña, M; Affinito, A; Maciel, M; Diaz Paleo, A; Andrés, AN, 2015. El Mejoramiento genético de Agropiro Alargado y *Lotus tenuis*. En XV Reunión anual de forrajeras: La ganadería competitiva en el campo. P. 6-16.

Acuña, M; Veliz, S; Lavandera, J; Grunberg, K; Andrés, AN. 2017. Parámetros genéticos y respuesta a la selección en caracteres vegetativos en *Thinopyrum ponticum*. 40° Congreso Argentino de Producción Animal. Revista Argentina de Producción Animal. 37 (1): p. 79.

Aguilar, A; Varea, I; Andrés, AN. 2018. Comportamiento de germoplasma de trébol de olor blanco (*Melilotus albus*) frente a la salinidad en medio hidropónico. I Congreso Multidisciplinario de la UNNOBA. Junín.

Andrés, AN. 2006. La mejora de la productividad, calidad y persistencia de las pasturas cultivadas a través de la genética. 3º Simposio Nacional de Sistemas Ganaderos en Siembra AAPRESID.

Andrés, AN y Lavandera, J. 2012. "Ensayo comparativo de poblaciones de trébol de olor de flor blanca (*Melilotus albus*)". En XIV Reunión anual sobre forrajes: Avances en especies forrajeras para campos ganaderos. P.19-21.

Ashraf, M; Harris, PJC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: p. 3-16.

Bazzigalupi, O; Pistorale, SM; Andrés, AN. 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de Agropiro Alargado (*Thinopyrum ponticum*). Ciencia e Investigación Agraria. Vol. 35, Nro. 3.

Berti, RN. 1989. Efecto de la densidad de siembra de avena sobre la producción de forraje de pasturas consociadas *Avena sativa- Melilotus alba*. Revista Argentina de Producción Animal. Vol. 9 (1): p. 49-55.

Borrajo, CI; Reigosa Roger, R. 2008. Efecto de la salinidad en poblaciones de agropiro alargado. In Congreso Argentino de Producción Animal. 31° Congreso Argentino de Producción Animal. Revista Argentina de Producción Animal, 28 (1): p. 456.

Bruno, OA.; Fossati, JL y Quaino, OR. 1983. Incorporación de trébol de olor de flor blanca en grama Rhodes. Producción Animal 10: p. 333-341.

Cangiano, CA; Mombelli, JC. 1975. Curva de crecimiento del trébol de olor blanco anual (*Melilotus alba* Medikus). R.I.A. (INTA) Serie 2 (Biol. y Prod. Veg) 12 (3): p. 77-96.

Ceccarelli, S. 2015. Efficiency of plant breeding. Crop Science, vol 55, p. 87-97.

Covas, G. 1964. Leguminosas para la región semiárida Pampeana. Hoja Informativa Nº 9, EEA INTA Anguil.

Covas, G. 1965. Tréboles de olor. Circular de Extensión Nº 13, EEA INTA Anguil.

De León, M. 2004. Ampliando la frontera ganadera. Informe Técnico Nro. 1, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Córdoba.

Díaz, HB. 1963. Comportamiento de especies forrajeras en suelos salinos del Dpto. Cruz Alta en la Provincia de Tucumán. Informe Preliminar. EEAT. Pub. Misc. Nº 12: p. 55-62.

Díaz, HB; Lagomarsino, ED. 1969. Suelos salino-sódicos y sódicos. Su utilización con especies forrajeras. R.A.N.A. Vol 6 (3-4): p. 221-231.

Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, C. 2013. Infostat-Software estadístico. Córdoba, AR, Universidad Nacional de Córdoba. Retrieved from http://www.infostat.com.ar/

Dodd, G; Donovan, L. 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of cold desert shrubs. American Journal of Botany. 86(8): p. 1146-1153.

Ernst, WHO. 1987. Population differentiation in glassland vegetation. In Disturbance in Grasslands: Causes, effects and processes. Ed. Van Andel, J; Bakker, JP and Snaydon, RW. Geobotánica, Vol.10. P. 213-228.

Falconer, DS. 1986. Introducción a la genética cuantitativa. Ed. Continental S. A. C.V. México.

Falconer, DS; Mackay, TFC. 1996 Introducción a la genética cuantitativa, Ed. 4. Longman Green, Harlow, Essex, Inglaterra.

FAO, 2019. Origin, classification and distribution of salt-affected soils. http://www.fao.org/docrep/x5871e/x5871e03.htm#2.4%20Distribution

Flowers, TJ; Flowers, SA. 2005. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders?. Agricultural Water Management 78: p. 15–24.

Fontana, LMC, 2014. Efecto de la utilización de leguminosas anuales como abono verde sobre las condiciones del suelo y la productividad de cultivos subsiguientes. Tesis para Magister en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela para graduados.

Franco, M. 2014. Estudio de la variabilidad genética en familias de medio hermanos de *Lotus tenuis* sometido a estrés salino. Tesis para optar al título de Magíster en genética vegetal-UNR. 140 p.

Franco Elisei, D. 2018. Estudio de la tolerancia a salinidad en etapas vegetativas tempranas de germoplasma de *Lotus tenuis*. Trabajo final de grado. Pergamino, Argentina, UNNOBA. 60 p.

Francois, LE. 1988. Salinity effects on three turf bermuda grasses. Hort science. 23: p. 706-708.

García, DE; Medina, MG; Soca, M; Montejo, IL. 2005. Toxicidad de leguminosas forrajeras en la alimentación de los animales monogástricos. Pastos y Forrajes 28 (4): p. 279-289.

Guercio, A; Varea, I; Elustondo, L; Andrés, AN. 2014. Variabilidad genética en producción de biomasa de poblaciones naturalizadas de *Melilotus albus.* 37º Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina, AAPA.

Hasegawa, PM; Bressan, RA; Zhu, JK; Bohnert, HJ. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review Plant Physiology Plan Molecular Biology. 51: p. 453-499.

Heslop-Harrison, J.1959. Variability and environment. Evolution.13: p. 145-147.

Hedrick, PW; Ginevan, ME; Ewing, EP.1976. Genetic polymorphism in heterogeneous environments. Annual Review of Ecological Systematics.7: p. 1-32.

Hoagland, DR; Arnon, DI. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular. 347: p. 1-32. Retrieved from http://www.cabdirect.org/abstracts/19500302257.html.

INASE, 2020. https://gestion.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones.

Isely, D. 1954. "Keys to Sweet Clovers (*Melilotus*)". Proceedings of the Iowa Academy of Science, 61(1), p. 119-131.

Ixtaina, VY; Mujica, MM. 2010. Variabilidad en los componentes del vigor de plántulas de *Lotus* t*enuis* según las épocas y densidades de siembra. Phyton. 79(1): p. 95-100.

Karlin, MS; Buffa, EV; Karlin, UO; Contreras, AM; Coirini, RO; Ruiz Posse, EJ. 2012. Relaciones entre propiedades de suelo, comunidades vegetales y receptividad ganadera en ambientes salinos (Salinas Grandes, Catamarca, Argentina). Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 8 (1): 45 p.

Kent, F; Ruiz, M de los A. 2019. Tréboles de olor. Forrajeras cultivadas anuales y perennes más difundidas en la provincia de La Pampa. EEA INTA Anguil. P. 53-56.

Láuchi, A. 1984. Mechanisms of salt tolerance in plants. California Agriculture. 38(10): p. 1820.

Leidi, EO; Pardo, JM. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino, que hay de nuevo. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNR. N°2. P. 69-90.

Loveless, M. y Hamrick, J. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics. (15), p. 65-

95.

López, C; Odorizzi, A; Basigalup, D; Arolfo, V; Martínez, MJ. 2016. El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba. ISBN 978-987-521-716-4.

Maas, EV; Hoffman, GJ. 1977. Crop salt tolerance. Journal of the Irrigation and Drainage Division. 102: 115-134.

Machado, R. 2011. Morphological and productive characterization of *Jatropha curcas* L. provenances. Pastos y Forrajes vol.34 nro.3.

Maciel, MA. 2019. Análisis fenotípico y genético del crecimiento inicial de familias de medio-hermanos de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth et Dewey) en condiciones de salinidad y sequía. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Agrarias, FCA-UNR. 229 pp.

Maddaloni, J; Ferrari, L. 2001. Trébol de olor blanco. Trébol de olor amarillo. Capítulo 18. En: Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. INTA-Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Facultad de Ciencias Agrarias. p. 303-315.

Martín, B; Sosa, O; Magra, G; Zerpa, G; Besson, P. 2012. Emergencia de forrajeras en un suelo salino-alcalino tratado con yeso. Revista Argentina de Producción Animal 32(2): p. 157-164.

Miñón, DP. 2013. Festuca alta. Producción de Forraje y Carne en los Valles Regados Patagónicos. EEA Valle Inferior-Convenio Provincia de Río Negro-INTA

Muhammad, A; Nudrat, AA. 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: An analytical comparison. Biotechnology Advances. 27. P. 744–752.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25 (2): p. 239-250.

Munns, R; Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. Annual Review Plant Biol. 59, p. 651-681.

Nair, R; Whittall, A; Hughes, S; Craig, A; Revell, D; Miller, S; Powell, T; Auricht, G. 2010. Variation in coumarin content of Melilotus species grown in South Australia. New Zealand Journal of Agricultural Research 53(3): p. 201-213.

Nguyen, HT; Sleper, DA. 1983. Theory and application of half-sib matings in forage grass breeding.

Pesqueira, J. 2008. Cambios bioquímicos, morfológicos y ecofisiológicos en plantas del género Lotus bajo estrés salino. Tesis PhD. Valencia, SPA, UPV.

Pittaro, M. G. 2014. Caracterización fenotípica y genotípica de germoplasma de *Panicum coloratum* L var. *coloratum* para la tolerancia a la salinidad. Tesis Maestría pp 98.

Pompeiano, A; Giannini, V; Gaetani, M; Vita, F; Guglielminetti, L; Bonari, E; Volterrani, M. 2014. Response of warm–season grasses to N fertilization and salinity. Scientia Horticulturae. 177: p. 92-98.

Primack, RB; Kang, H. 1989. Measuring fitness and natural selection in plant populations. Annual Review of Ecological Systematics. 20: 367-396.

Quiroga, RE. 2011. Variación morfológica en once poblaciones del pasto nativo. Trichloris crinita. INTA EEA, Catamarca. Argentina. Revista Argentina de Producción Animal, 31: p. 539.

Ríos, S; Sánchez Zamora, M; Correal, E; Robledo, A. 1993. *Melilotus albus* Medik, una leguminosa de uso múltiple para las tierras calizas de la España seca, Pastos xxi (1): p. 61-76.

Romero, NA; Ruiz, M. de los A. 2001. Efectos de la alfalfa y del melilotus usados como forraje y abono verde, sobre la producción de pasturas y cultivos. Boletín de Divulgación Técnica INTA Anguil, Nro. 7: p. 42-47.

Rogers, ME; Craig, AD; Munns, R; Colmer, TD; Nichols, PGH; Malcolm, CV; Barrett-Lennard, EG; Brown, AJ; Semple, WS; Evans, PM; Cowley, K; Hughes, SJ; Snowball, R; Bennett, SJ; Sweeney, GC; Dear, BS; Ewing, M. 2005. The potential for developing fodder plants for the salt-affected areas of southern and eastern Australia: an overview. Australian Journal of Experimental Agriculture, 45: p. 301-329.

Saccoccia, MP. 2020. Estudio de la tolerancia a salinidad en etapas vegetativas tempranas de familias de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb. Var arundinacea). Trabajo final de grado. Pergamino, Argentina. UNNOBA. 65 p.

Shannon, MC. 1997. Adaptation of plants to salinity. Advances in Agronomy, 60: p. 75-120.

Sherif, EA, 2008. *Melilotus indicus* (L.) All., a salt-tolerant wild leguminous herb with high potential for use as a forage crop in salt-affected soils.

Smith, D; Dobrenz, AK; Schonhorst, MH. 1981. Response of alfalfa seedling plants to high levéisof chloride - salts. Journal of Plant Nutrition. 4: p. 143-174.

Smith, W; Gorz, HJ. 1965. Sweetclover improvement. Adv. Agron. 17: p. 163-231

Snaydon, RW. 1978. Genetic changes in pasture population. In: Plant relations in Pasture, Wilson J. R. (Ed.) CSIRO. Melbourne, p. 253-269.

Snaydon, RW. 1985. Aspects of the ecological genetics of pasture species.

Stanfield, W.D. 1971. Genética. Teoría y 440 problemas resueltos. Segunda ed. Serie Schaum, McGraw-Hill, México. 405 pp.

Tyler, BF; Chorlton, KH; Thomas, ID. 1987. Chapter 1: Collection and field sampling techniques for forage. In: Collection, Characterization and Utilization of Genetic Resources of Temperate Forage Grass and Clover. IBPGR, Roma. P. 3-10.

Tester, M; Davenport, R. 2003. Na+ tolerance and Na+ transport in higher plants. Annals of Botany, 91 (5): p. 503-527.

Toll Vera, JR. 2018. Los tréboles de olor como recurso forrajero. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Agronomía y Zootecnia. 1 ed.

Tomás, MA; Iacopini, ML.; De Marco, N; Giordano, M; Cardamone, L; Pilatti, V. 2016. Mejoramiento genético de *Melilotus Albus.* Información técnica de producción animal. INTA Rafaela.

Traverso, JE; Babinec, FJ; Troiani, H. 2005. Caracterización y agrupación de entradas por compatibilidad de caracteres fenotípicos en el género Melilotus. Publicación técnica Nº64. EEA INTA Anguil.

Troiani, HO; Steibel, PE. 2008. Reconocimiento de Malezas. Región Subhúmeda y Semiárida Pampeana. Disponible en: http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/rdata/libro/html/l_trorec001/descripciones_web_hz/Melilotus_albus.htm

Varea, I; Andrés, AN; Tomás, A. 2016. Caracterización morfológica de familias de medio hermanos de *Melilotus albus* creciendo en un medio salino. II Reunión Argentina de Jóvenes Botánicos.

Varea, I; Andrés, AN; Tomás, A. 2017. **a)** Estimación de parámetros genéticos en caracteres relacionados con la tolerancia a la salinidad en familias de *Melilotus albus*. Revista Argentina de Producción Animal, Vol 37 Supl. 1: p. 41. 40°Congreso argentino de producción animal (AAPA).

Varea, I; Andrés, AN; Tomás, A. 2017. b) Seed production in half sibs families of *Melilotus albus* Medik. selected for salinity tolerance. 9th International Herbage Seed Conference Pergamino, Argentina.

Varea, I; Guercio, A; Elustondo, L; Andrés, AN. 2014. Efecto del año en caracteres de producción de biomasa de poblaciones naturalizadas de *Melilotus albus* Desr. 37º Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina, AAPA.

Veneciano, JH; Terenti, OA; Privitello, M. 1994. Crecimiento acumulado de *Melilotus alba* Medikus. Producción y composición morfológica de la forrajimasa. Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de La Pampa. Vol. 7 (2): p. 13-24.

Yamaguchi, T; Blumwald, E. 2005. Developing salt-tolerant crop plants: Challenges and opportunities. Trends in Plant Science. 10(12): p. 615-620.

Zabala, JM; Marinoni, L; Giavedoni, JA; Schrauf, GE. 2018. Breeding strategies in *Melilotus albus* Desr., a salt-tolerant forage legume. Euphytica, 214: 22 (doi: 10.1007/s10681-017-2031-0).

ANEXOS

1.0. Estadísticos descriptivos para los caracteres analizados: desvió estándar (DE), coeficiente de variación (CV), valor minimo (min.) y valor máximo (max.).

Variable	Media	DE	CV	Min.	Max.
ALT	21,27	6,07	28,53	9	44
NH	17,8	7,44	43,31	6	50
NR	4,11	1,75	42,57	0	9
PFH	6,01	3,25	54,06	0,80	17,88
PFT	2,07	1,63	78,48	0,16	9,61
LR	37,20	11,75	31,59	15,20	98,20
Verdor	52,41	6,70	12,79	32.40	81,50
AF	134,98	15,91	11,79	97,00	177,34
PSH	0,99	0,48	48,24	0,14	2,69
PST	0,43	0,28	65,64	0,03	1,65
PSR	0,95	0,41	42,60	0,11	2,49
PSA	1,42	0,69	48,58	0,23	4,06
PSTotal	2,38	0,94	39,54	0,68	5,78
Relación H/T	3,00	2,00	66,76	0,91	19,11