

**VARIABILIDAD GENOTÍPICA ASOCIADA AL ÁREA FOLIAR EN UNA POBLACIÓN DE
LÍNEAS ENDOCRIADAS RECOMBINANTES DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Trabajo Final de Grado
del alumno



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino,.....

**VARIABILIDAD GENOTÍPICA ASOCIADA AL ÁREA FOLIAR EN UNA POBLACIÓN DE
LÍNEAS ENDOCRIADAS RECOMBINANTES DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Trabajo Final de Grado

del alumno

GIULIANO ANDRÉS GUERRINI

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Ing. Agr. (MSc) Roberto, Lorea Ing. Agr. (MSc) Raquel, Defacio Ing. Agr. (MSc) Carla, Delucchi

Evaluador

Evaluador

Evaluador

Ing. Agr. Antonio, Díaz Paleo

Co-Director

Lic. Luciano, Molins

Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino,.....

Agradecimientos

- A toda mi familia, que son el pilar de mi vida y me brindaron el apoyo y la confianza en todos estos años para poder realizar esta carrera.
- A la Universidad Nacional del Noroeste de Buenos Aires, y todos los profesores por la formación que me brindaron.
- Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino por brindarme la posibilidad de realizar este trabajo.
- A Luciano Molins por su ayuda y paciencia en la realización de este trabajo, por los conocimientos y enseñanzas brindadas.
- A Antonio Diaz Paleo por su ayuda y correcciones en la redacción del presente trabajo.
- A Simón San Sebastián por su ayuda en los trabajos de campo y procesamiento de las muestras de este trabajo.
- A mis compañeros y amigos de facultad por todos los momentos compartidos, los mates, las risas, las tardes de estudios que han hecho que estos años de estudio fueran muy amenos.
- A mis amigos de la vida, por bancarme siempre cuando tenía que estudiar y apoyarme siempre en esta carrera.

Índice

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
2.1. El maíz: Importancia, distribución y usos	2
2.2. Factores que afectan la producción y el rendimiento	3
2.3. Intercepción de la radiación	4
2.4. Índice de área foliar	4
2.5. Mejoramiento genético de maíz	6
2.6. Antecedentes del grupo de trabajo.....	8
2.7. Hipótesis.....	8
2.8. Objetivo general.....	8
2.8.1. Objetivos específicos.....	9
3. Materiales y métodos	10
3.1. Material vegetal.....	10
3.2. Diseño experimental	10
3.3. Evaluaciones fenotípicas	11
3.4. Evaluaciones estadísticas	13
3.4.1. Análisis de las segregaciones transgresivas	13
3.4.2. Análisis de las correlaciones fenotípicas.	14
3.4.3. Determinación de la existencia de variabilidad genética	14
3.4.4. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto	14
4. Resultados	16
4.1. Análisis estadístico.....	16
4.1.1. Estadísticos descriptivos	16
4.1.1.1. Comportamiento de las líneas parentales.....	16
4.1.1.2. Evaluación de la población de RILs	17
4.1.2. Prueba de normalidad de la distribución fenotípica.....	18
4.1.3. Análisis de las segregaciones transgresivas.....	19
4.1.4. Análisis de correlaciones fenotípicas	20
4.1.5. Análisis de la variabilidad genética	21
4.1.6. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto	23
5. Discusión.....	24
6. Conclusiones.....	28
7. Bibliografía	29
Anexo 1	33
Anexo 2.....	34

1. Resumen

El rendimiento por unidad de superficie en maíz, está condicionado por el número de individuos capaces de producir rendimiento en grano. La biomasa producida por cada individuo refleja la disponibilidad de recursos durante toda la estación de crecimiento y se asocia con su rendimiento. Aumentos en la radiación interceptada por el cultivo se traducen en aumentos proporcionales en la tasa de crecimiento del mismo. Para lograr altos valores de intercepción de la radiación, es importante generar en forma temprana un IAF que permita interceptar rápidamente la mayor proporción de la radiación incidente. Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar fenotípicamente a campo el área foliar en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz derivada del cruzamiento entre dos líneas parentales contrastantes, caracterizar la variabilidad genotípica asociada a la misma y determinar la relación existente entre este atributo con la producción de biomasa aérea y el rendimiento en granos.

El experimento fue conducido en secano en el campo de la estación experimental del INTA Pergamino, durante la campaña 2015/2016.

Se comprobó la existencia de variabilidad genotípica significativa ($<0,0001$) para todos los caracteres evaluados y se obtuvieron valores altos de heredabilidad (mayores a 0,5) para los mismos. La mayoría de los rasgos mostraron segregación transgresiva hacia ambos extremos de la distribución fenotípica, excepto BIO y PG.

La asociación entre caracteres se realizó a partir de la matriz de coeficientes de correlación de Pearson, en donde el rendimiento correlacionó positivamente con los atributos que lo determinan (NGP y PG) y con IC y BIO, aunque no correlacionó con los caracteres asociados a la captura de luz (AP, NHT, AFM, IAF, LMH y AMH).

La alta heredabilidad estimada de IAF y sus caracteres componentes permitirían llevar a cabo una selección eficiente de los mismos con el objetivo de mejorar la intercepción de radiación, aun cuando no correlacionó IAF con el rendimiento.

2. Introducción

2.1. El maíz: Importancia, distribución y usos

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos alimenticios más antiguos que se conocen. Es una especie diploide ($2n = 20$) perteneciente a la familia de las *Poáceas*, Tribu *Maydeae* y es la única especie cultivada de este género. Su centro de origen está en México, desde donde se difundió a todo el mundo a partir de fines del Siglo XV. Su difusión fue más rápida en las zonas templadas en las cuales representa cerca del 40% del área cosechada y el 60% de la producción mundial (Paliwal, 2001). Es cultivado en una gran diversidad de ambientes que abarcan un amplio rango de regiones climáticas, desde la zona tropical hasta los 58° de latitud norte en Canadá y Rusia y hasta los 40° de latitud sur en Argentina y Chile. Es clasificado en dos tipos distintos dependiendo de la latitud y del ambiente en el que se cultiva. El maíz cultivado en los ambientes más cálidos, entre la línea ecuatorial y los 30° de latitud sur y los 30° de latitud norte es conocido como maíz tropical, mientras que el que se cultiva en climas más fríos, más allá de los 34° de latitud sur y norte es llamado maíz de zona templada (Paliwal, 2001).

Además, también puede ser clasificado en base a la constitución del endosperma del grano (*Flint*, dentado, harinoso, ceroso, dulce y *pop corn*), en base a la madurez y sus usos.

El maíz junto con el trigo (*Triticum aestivum* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.), es uno de los cereales más importantes del mundo, dado que suministra elementos nutritivos a los seres humanos y a los animales y es una materia prima básica de la industria de transformación, con la que se producen almidón, aceite y proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y biocombustible (FAO, 2002).

En nuestro país es el segundo cultivo con mayor superficie de siembra. En la campaña 2017/2018 el área sembrada de maíz fue de 6,43 millones de hectáreas, un 10% más que la superficie sembrada en la campaña 2016/2017, con una producción de 32 millones de toneladas y un rendimiento promedio de 59,8 quintales por hectárea siendo las provincias de Córdoba y Buenos Aires los principales núcleos de producción (Bolsa de Comercio de Rosario, 2018). Para el año 2030, se estima que la demanda mundial de maíz será de aproximadamente 1.500 millones de toneladas (FAO, 2002). En un contexto de aumento de la demanda anual, será necesario aumentar la producción a una cantidad anual

aproximada de 40 millones de toneladas por año. Para garantizar el abastecimiento de la demanda las alternativas que permitirían lograrlo son destinar más superficie para el cultivo y aumentar los rendimientos. Asumiendo que no habrá un incremento sustancial en el área de producción, para cubrir esta demanda se necesitará una tasa de crecimiento anual en la producción de 4% aproximadamente. El aumento de la producción deberá reducir la brecha entre los rendimientos potenciales y los reales (Cassman *et al.*, 2003; Fischer y Edmeades, 2010), principalmente a través de un mejor aprovechamiento de los recursos (captura y uso) cuando estos se encuentran en condiciones deficitarias.

2.2. Factores que afectan la producción y el rendimiento

El maíz posee una elevada capacidad de crecimiento debido, entre otros factores, a su alta eficiencia fotosintética, el bajo costo energético para la producción de biomasa y su conveniente estructura de cultivo (Andrade *et al.*, 1996). El alto potencial de rendimiento y la notable sensibilidad del rendimiento ante el estrés, hacen del maíz un cultivo de gran respuesta biológica al ajuste correcto en su manejo (Andrade *et al.*, 1996).

El rendimiento por unidad de superficie está condicionado por el número de individuos capaces de producir rendimiento en grano. La biomasa producida por cada individuo refleja la disponibilidad de recursos durante toda la estación de crecimiento y se asocia con su rendimiento (Vega *et al.*, 1997).

En el cultivo de maíz, el número de granos por unidad de superficie es el componente que mayor asociación tiene con el rendimiento final, variando más que el peso del grano en respuesta a las fluctuaciones en las condiciones ambientales (Fischer y Palmer, 1984; Cirilo y Andrade, 1994). El número de granos se determina alrededor de floración, motivo por el cual se definió a esta etapa como periodo crítico (Otegui y Bonhomme, 1998) y se lo ha correlacionado con la interceptación de luz (Andrade *et al.*, 1999, 2000; Kiniry y Knievel, 1995), la fotosíntesis (Edmeades y Daynard, 1979) y el crecimiento del cultivo (Hawkins y Cooper, 1981; Andrade *et al.*, 1999) durante el período crítico mencionado.

La tasa de crecimiento del cultivo, definida como la cantidad de biomasa acumulada por unidad de tiempo, resulta del balance de dos procesos contrapuestos: la fotosíntesis (ganancia de CO₂) y la respiración (pérdida de CO₂). Debido a que la fracción de carbono fijado que se destina a respiración es relativamente constante, aumentos en la radiación interceptada por el cultivo se traducen en aumentos proporcionales en la tasa de crecimiento del mismo (Monteith, 1977; Gallagher y Biscoe, 1978).

2.3. Intercepción de la radiación

La radiación interceptada por un cultivo es el resultado de la eficiencia con que la radiación fotosintéticamente activa incidente es interceptada por el canopeo. La producción de fotoasimilados puede ser expresada en términos de su eficiencia para convertir la radiación solar interceptada en biomasa, a partir de la siguiente relación:

$$B = R_{inc} * e_i * EUR \quad (1)$$

donde B es la biomasa del cultivo ($g.m^{-2}$); R_{inc} es la radiación incidente ($MJ.m^{-2}$); e_i es la eficiencia de intercepción de la radiación (fracción de 1); EUR es la eficiencia de uso de la radiación o eficiencia de conversión ($g.MJ^{-1}$) (Satorre *et al.*, 2003).

El maíz tiene una alta eficiencia de conversión o de uso de la radiación (EUR) por poseer un metabolismo de fijación de carbono por la vía C4, lo que le confiere un ritmo fotosintético entre un 30 y un 40% mayor que el de las especies C3 (Hesketh, 1963).

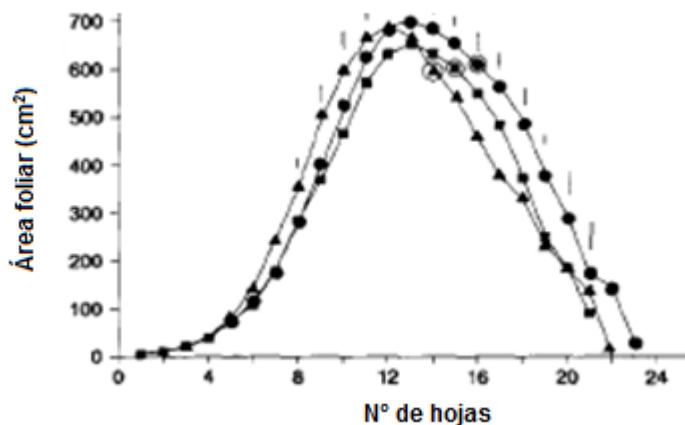
La cantidad de radiación solar interceptada acumulada por el cultivo depende de la duración del ciclo y de la dinámica de intercepción por parte del canopeo. Este último factor está fuertemente ligado a la evolución del índice de área foliar (IAF) (Maddonni y Otegui, 1996).

2.4. Índice de área foliar

El IAF es definido como la superficie foliar fotosintéticamente activa por unidad de superficie de suelo. Se genera con la aparición y expansión de las hojas y es producto del número de hojas, del tamaño de las mismas y de la densidad de siembra (Cirilo y Andrade, 1994). El tamaño de las hojas depende de la duración y de la tasa de expansión foliar. La temperatura modifica en forma substancial el IAF debido a sus efectos sobre la duración del periodo de diferenciación de hojas y la tasa de aparición. La tasa de expansión foliar responde marcadamente a la disponibilidad de recursos. Deficiencias de agua y/o nutrientes reducen la tasa de expansión foliar, mientras que la duración no se ve afectada (Cirilo y Andrade, 1994).

El IAF aumenta en forma exponencial porque generalmente las primeras hojas son de menor tamaño que las siguientes, siendo las hojas de mayor área las que se encuentran en proximidad a la posición en la que se forme la espiga primaria en la planta y la que sostiene a dicha espiga, observándose una relación como se muestra a continuación en la figura 1.

Figura 1: Imagen en la que se muestra la variación del área individual de las hojas en las diferentes posiciones en la planta de un híbrido de maíz sembrado en tres fechas diferentes.



Fuente: Maddonni y Otegui (1996).

Para lograr altos valores de intercepción de la radiación, es importante generar en forma temprana un IAF que permita interceptar rápidamente la mayor proporción de la radiación incidente. Un índice de área foliar óptimo, es definido como aquel que soporta el incremento máximo de producción de materia seca (Roderick, 1981). Éste es alcanzado cuando los últimos estratos inferiores de hojas son capaces, en promedio, de mantener un balance positivo de carbono, es decir cuando el cultivo virtualmente intercepta toda la radiación fotosintéticamente activa incidente (Roderick, 1981).

El porcentaje de radiación fotosintéticamente activa interceptada por un canopeo se relaciona con el IAF a través de una función de tipo exponencial (Maddonni and Otegui, 1996):

$$fRFAI = a (1 - e^{-k \cdot IAF}) \tag{2}$$

donde fRFAI es la fracción de radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo, a es el valor del *plateau* o techo, e es una constante, k es el coeficiente de

atenuación lumínica, IAF es el índice de área foliar.

Cuando los valores de IAF son bajos, su incremento ocasiona un aumento importante en el porcentaje de radiación interceptada, mientras que a partir de un cierto valor de IAF, un incremento semejante genera un aumento significativamente menor en la proporción de la radiación interceptada (Satorre *et al.*, 2003). El valor mínimo de IAF con el cual se alcanza el 95% de la intercepción de la radiación se denomina IAF crítico (Gardner *et al.*, 1985).

El valor k conocido como coeficiente de atenuación lumínica, depende de las propiedades ópticas y geométricas del canopeo entre las que cabe mencionar el ángulo que forman las hojas con la vertical y su disposición en el plano horizontal, el tamaño, la cantidad y la forma de las hojas. De esta manera, canopeos erectófilos (menor ángulo de inserción de las hojas con respecto al tallo) presentan un menor valor de k que aquellos planófilos. A medida que aumenta el coeficiente de atenuación, mayor es la proporción de la radiación interceptada por unidad de área foliar (Pepper *et al.*, 1977). Las alteraciones en el coeficiente de extinción para un valor dado de IAF promueven alteraciones en la radiación solar interceptada y en la eficiencia de conversión de la misma en biomasa y, por lo tanto, en la acumulación de esta última (Lindquist *et al.*, 2005). Las reducciones en el área foliar reducen la intercepción de luz y el crecimiento de las plantas, disminuyendo en última instancia el rendimiento.

2.5. Mejoramiento genético de maíz

El rendimiento de maíz ha aumentado durante las últimas décadas. El avance tecnológico sobre la genética del mismo, condujo a que sea el cultivo con mayor aumento de rendimiento en los últimos 30 años (Andrade *et al.*, 1996). Asimismo, la oferta y variedad de los insumos utilizados en su producción, tales como agroquímicos, fertilizantes, maquinaria, etc., provocaron cambios profundos que contribuyeron al incremento del rendimiento.

En Argentina, en los últimos 30 años el rendimiento nacional de maíz ha crecido a una tasa de 2.9 % anual, o de casi $160 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$, un valor superior a los registrados en Canadá ($123 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$), Estados Unidos ($112 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$), Brasil ($110 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$), China ($67 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$) y al promedio mundial ($68 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$) (Eyhérbide, 2015). El suceso más destacado en los años '70 fue la masificación del uso de híbridos simples, que se generan por el cruzamiento de dos líneas endocriadas. Paralelamente, se

observan avances tecnológicos en la maquinaria agrícola, una mayor cantidad de fitosanitarios y un mejoramiento de las prácticas agronómicas.

En los años '80 continúa el proceso de sustitución de variedades por híbridos, lográndose grandes avances en el manejo postcosecha del grano, en particular en los procesos de almacenamiento y secado. Los productores, ante el avance del deterioro del suelo, comienzan a adoptar diferentes sistemas de labranza conservacionista, tendientes a frenar este proceso (por ejemplo, la siembra directa).

Durante la década del '90 no sólo se logran incrementos en la cantidad de granos producidos, sino que además son destacables los avances en relación a la calidad.

Como resultado de la selección, en los últimos años se han obtenido híbridos que poseen una tasa de crecimiento mayor, principalmente durante el período de llenado de granos, debido a un mayor IAF, mayor duración del área foliar verde y hojas con un ángulo de inserción vertical más erecto (Fischer and Edmeades, 2010).

El área foliar por planta no se ha modificado significativamente a lo largo de los años de mejoramiento de maíz, pero el incremento en la tolerancia a las altas densidades de siembra ha permitido el aumento del IAF desde $2,4 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$ en 1930, hasta $4,8 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$ en el año 2000. Este incremento se ha traducido en aumentos en la intercepción de luz de aproximadamente un 20%. El efecto de un mayor IAF sobre la intercepción de luz es compensado, en parte, por un ángulo de inserción foliar más erectófilo. La combinación de un IAF mayor y un ángulo de inserción foliar erectófilo ha resultado en un 14% aproximadamente de incremento en la intercepción de luz de los híbridos modernos (Duvick *et al.*, 2004).

Al seleccionar genotipos con una arquitectura de hojas, de raíz, del tallo y de la espiga adecuadas, se podrían obtener genotipos con una arquitectura de planta ideal que podrían maximizar la captura y el uso de la energía solar en todos los estadios de crecimiento y maximizar el rendimiento por unidad de área (Ku *et al.*, 2015).

La variabilidad genética existente dentro de una especie en términos de IAF, arquitectura del canopy y proporción de la radiación incidente que intercepta el cultivo, representa una oportunidad útil para los programas de mejoramiento orientados a aumentar el rendimiento. En maíz, el mejoramiento genético de la eficiencia en la captación de luz depende del mejoramiento de sus características componentes, tales como la duración del área foliar verde, el ángulo de inserción foliar y el índice de área foliar. La mayor parte de la investigación sobre los determinantes fisiológicos del rendimiento, como captura de luz, eficiencia en el uso de la radiación y partición de

biomasa ha sido realizada en híbridos, siendo más escaso el conocimiento al respecto para otro tipo de filiales. En líneas endocriadas es menor la disponibilidad de información para los atributos mencionados (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009, 2013, 2016; Mirabilio *et al.*, 2010).

2.6. Antecedentes del grupo de trabajo

En la EEA INTA Pergamino, se desarrollaron los métodos necesarios para evaluar determinados atributos asociados a la eficiencia en la captación de luz, tales como área foliar verde máxima por planta, ángulo de inserción de las hojas y duración del área foliar verde, en un número elevado de genotipos (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009). Estos atributos se evaluaron en líneas endocriadas de maíz, se seleccionaron líneas contrastantes para los caracteres antes mencionados y a partir del cruzamiento entre estas, por autofecundaciones aleatorias sucesivas bajo un esquema de *Single Seed Descent* (SSD), se generó una población de RILs F₈. En este trabajo se empleó una población de RILs proveniente del cruzamiento entre las líneas parentales LP179 y L5605 para evaluar el índice de área foliar y sus componentes y determinar su relación con el rendimiento.

2.7. Hipótesis

En la población de líneas endocriadas recombinantes utilizadas en el presente trabajo existe variabilidad genotípica asociada al área foliar y este carácter está relacionado con la producción de biomasa aérea y el rendimiento en granos.

2.8. Objetivo general

Determinar la contribución relativa de la variabilidad genotípica a la variabilidad en la expresión fenotípica del área foliar en una población de líneas endocriadas recombinantes.

2.8.1. Objetivos específicos

1. Evaluar fenotípicamente a campo el área foliar en la población de líneas endocriadas recombinantes utilizada en el presente trabajo.
2. Caracterizar la variabilidad genotípica asociada al área foliar en la población de líneas endocriadas recombinantes.
3. Determinar la relación existente entre el área foliar con la producción de biomasa aérea y el rendimiento en granos.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

El material genético evaluado estuvo constituido por una población de 133 RILs F₈, obtenida a partir del cruzamiento inicial entre dos líneas contrastantes de maíz pertenecientes al programa de mejoramiento de la EEA INTA Pergamino. La línea parental LP179 deriva de una sintética Suwan seleccionada por adaptación al medio oeste de Estados Unidos y posteriormente introducida en Argentina (Eyhérbide, comunicación personal). Posee textura tipo *flint* con grano de color anaranjado. Es una línea que se caracteriza por poseer una orientación foliar semierecta, una elevada persistencia foliar verde en el periodo de postfloración, un índice de área foliar alto como producto de un área foliar elevado, y una baja estatura (Cirilo, comunicación personal). La línea L5605 fue obtenida por endocría hasta estabilización a partir del cruzamiento entre las líneas LP116 y P578. A su vez, LP116 deriva por endocría de la Sintética Argentino–Caribe y P578 es una línea derivada del cruzamiento entre germoplasma argentino y de Estados Unidos (Eyhérbide, comunicación personal). Ésta línea se caracteriza por poseer un grano de color anaranjado tipo *flint*, con una orientación foliar erectófila, una baja persistencia foliar verde en postfloración, un bajo índice de área foliar y una mayor altura de planta que la línea LP179 (Cirilo, comunicación personal).

Las semillas fueron obtenidas en el campo de cría de la EEA INTA Pergamino durante la campaña 2014/2015 mediante la autofecundación de las RILs F₇.

3.2. Diseño experimental

El experimento se llevó a cabo en el campo de la EEA INTA Pergamino (33° 56´S, 60° 34´O) sobre un suelo Argiudol típico (arcilloso limoso) en condiciones de secano y con el agregado de fertilizante en forma de fosfato diamónico (40 kg P.ha⁻¹ y 36 kg N.ha⁻¹) durante la siembra y urea (230 kg N.ha⁻¹) en el estadio V₇.

La siembra se realizó a principios de noviembre de forma mecánica, mediante el empleo de una sembradora neumática. Cada parcela consistió de tres surcos de 5 metros de longitud distantes 0,7 metros entre surcos. La distancia entre cada planta dentro del surco fue de 0,16 metros aproximadamente, dando una densidad estimada de 90.000 plantas por hectárea. El germoplasma correspondiente a las RILs más las dos líneas

parentales se distribuyó en un diseño en bloques completos aleatorizados con dos repeticiones.

Para el control de malezas se aplicaron herbicidas tanto en pre-emergencia como durante el ciclo del cultivo. En la Tabla 1 se mencionan los productos químicos aplicados, el estadio respectivo de aplicación y las malezas para las cuales se empleó cada herbicida.

Tabla 1: Herbicidas aplicados durante el ciclo del cultivo.

Estadio de aplicación	Herbicida	Dosis	Malezas
Pre-emergencia	-Atrazina ((2-cloro-4-(etilamina) 6-(isopropilamina)-s-triazina)	2 l.ha ⁻¹	Hoja ancha
	-Glifosato ((N-fosfonometilglicina)	3 l.ha ⁻¹	Hoja fina y hoja ancha
	-Metolaclor (S-2-cloro-N-(2-etil-6-metil-fenil) N-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamida	1,5 l.ha ⁻¹	Hoja fina
V5	-Foramsulfuron: N, N-dimetil-2-[3-(4,6-dimetoxipirimidin-2-il) ureidosulfonil]-4 formilaminobenzamida	120 g.ha ⁻¹	Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i> L.)
	-Odosulfuron metil sodio: sal sódica de 4-yodo-2-[3-(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il) ureidosulfurfonil] benzoato de metilo isoxadifen ethyl		Cuaresma (<i>Digitaria sanguinalis</i> L.) Capín (<i>Echinochloa crusgalli</i> L.)

3.3. Evaluaciones fenotípicas

En el surco central de cada parcela se marcaron 3 plantas en el período V₄, sobre las cuales se realizaron todas las mediciones no destructivas hasta el estado de madurez fisiológica. En dicho período, momento en que los granos de la porción media de las espigas mostraron una “capa negra” resultante de la necrosis de los haces vasculares en el pedicelo de los granos, se cosecharon las plantas marcadas para determinar los componentes de rendimiento. Los caracteres evaluados fueron los siguientes:

- Número de hojas totales (NHT, hojas.pl⁻¹): Se marcaron las hojas correspondientes a las posiciones cinco y diez de cada planta para luego obtener el número de hojas totales generado por las mismas (Tang *et al.*, 2007).

- Área foliar verde máxima por planta en floración (AFM, cm²): Se determinó como la sumatoria del área foliar de las hojas verdes de cada planta en floración femenina. Para ello se midió la longitud (L) y el ancho máximo (A) de cada hoja y se calculó su área foliar (AF) de la siguiente manera:

$$AF = L * A * 0,75 \text{ (Montgomery, 1911).} \quad (3)$$

- Índice de área foliar máximo en floración por parcela (IAF, m² de hojas.m⁻² de suelo): Se obtuvo como el producto del valor de AFM (transformado a m² de hojas) obtenido a partir del promedio de las tres plantas evaluadas en cada parcela y la densidad de siembra (9 plantas.m⁻²).
- Longitud máxima de la hoja (LMH, cm): Para cada genotipo se registró el valor máximo de longitud de la lámina de la hoja, desde la lígula hasta el extremo.
- Ancho máximo de la hoja (AMH, cm): Para cada genotipo se registró el valor máximo de ancho de la hoja.
- Fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo en floración (fRFAI_{max}): Para realizar estas mediciones se empleó un sensor ceptómetro de un metro de longitud, marca comercial Cavadevices®. Las determinaciones se realizaron en días soleados entre las 11 y las 14 horas. En cada parcela se realizó una medición de la radiación incidente por encima del canopeo (μMOL de fotones.m⁻².s⁻¹) y tres mediciones de la radiación transmitida dentro del mismo. Para esto, se colocó el sensor de manera diagonal a los surcos, debajo de las hojas verdes, pero por encima de las hojas basales que se encontraban senescentes al momento de la medición. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) interceptada por el canopeo en cada parcela se obtuvo como la diferencia entre la RFA incidente por encima del canopeo y la RFA transmitida (promedio de las tres mediciones de cada parcela). Luego se determinó la fRFAI como el cociente entre la RFA interceptada y la RFA incidente (Maddonni and Otegui, 1996).
- Altura de planta (AP, cm): Se registró como la distancia desde el suelo hasta la lígula de la última hoja (Tang *et al.*, 2007).
- Biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BIO, g.pl⁻¹): En madurez fisiológica, las plantas marcadas se cosecharon y se secaron en estufa a 65°C

durante siete días hasta peso constante para luego registrar el peso seco de cada planta.

- Rendimiento en granos por planta (RGP, g.pl⁻¹): Se separaron las espigas del resto del material vegetal y se desgranaron para luego registrar el peso de los granos por planta marcada.
- Número de granos por planta (NGP, granos.pl⁻¹): Se determinó mediante el recuento manual de los granos de cada planta marcada.
- Peso individual del grano (PG, mg.grano⁻¹): Se obtuvo como el cociente entre el RGP y NGP.
- Índice de cosecha (IC): Se determinó mediante el cociente entre el RGP y BIO.

3.4. Evaluaciones estadísticas

Se obtuvieron los valores medios de todos los rasgos para las dos líneas parentales y se determinó si existieron diferencias significativas entre las mismas utilizando el test de comparación de medias MDS de Fisher.

Se determinaron los estadísticos descriptivos y se obtuvieron los valores de la media, desvío estándar, error estándar, coeficiente de variación, mediana, asimetría y kurtosis para cada rasgo en la población.

Se analizó la normalidad de la distribución fenotípica de los caracteres mediante el empleo de la prueba de Shapiro-Wilks modificado y se rechazó la hipótesis nula que establece normalidad en la distribución del carácter cuando la probabilidad asociada del test estadístico resultó menor a 0,01 ($p < 0,01$). Todos los análisis estadísticos mencionados fueron realizados mediante el empleo del programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015).

3.4.1. Análisis de las segregaciones transgresivas

Las segregaciones transgresivas fueron analizadas mediante el método propuesto por Wolyn *et al* (2004). Este método tiene en cuenta el error estándar y considera que existe segregación transgresiva significativa cuando el valor fenotípico de alguna de las RILs es menor a la línea parental inferior menos dos veces el error estándar (EE) o cuando es mayor a la línea parental superior más dos veces el error estándar. Es decir:

- $RIL > \text{Línea parental superior} + 2 * EE$ (Segregación transgresiva)
- $RIL < \text{Línea parental inferior} - 2 * EE$ (Segregación transgresiva)

3.4.2. Análisis de las correlaciones fenotípicas.

Se determinaron las correlaciones fenotípicas entre los caracteres y su relación con el rendimiento a través del cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson, mediante la utilización del programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015).

3.4.3. Determinación de la existencia de variabilidad genética

Para determinar la existencia de variabilidad entre los genotipos, se efectuó el análisis de la varianza (ANOVA), previa transformación de las variables cuando fue requerido, mediante el empleo del programa InfoStat. Para esto se empleó un modelo lineal generalizado en el cual un determinado valor fenotípico depende del efecto del genotipo i , en una repetición k . El modelo incluyó el efecto del genotipo y del bloque o repetición:

$$Y_{ik} = \mu + G_i + R_k + \varepsilon_{ik} \quad (5)$$

donde, μ : media general; G_i : efecto del i -ésimo genotipo, con $i = 1, \dots, 133$; R_k : efecto del k -ésimo bloque o repetición, con $K: 1, 2$; ε_{ik} : error aleatorio asociado al efecto del i -ésimo genotipo y k -ésimo bloque. El efecto del genotipo fue considerado como aleatorio mientras el efecto del bloque o repetición fue considerado como un efecto fijo. Para este análisis estadístico se utilizó el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico SAS®9.0 (SAS Institute, 1999).

3.4.4. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto

La heredabilidad en sentido estricto (h^2) a través de medias de familias endocriadas, para cada uno de los caracteres, se determinó a partir de los componentes de varianza, los cuales fueron estimados mediante el empleo de modelos mixtos, utilizando el método de máxima verosimilitud restringida (REML) (Searle *et al.*, 1992). Este método es

preferible por sobre la estimación de componentes de varianza basados en el método ANOVA cuando se trabaja con una estructura de datos desbalanceados, debido a que los estimadores son más consistentes. Para esto se empleó el procedimiento Proc MIXED del programa estadístico SAS®9.0. La heredabilidad en sentido estricto se estimó de la siguiente manera:

$$h^2 = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_e/r) \text{ (Holland } et al., 2003) \tag{6}$$

donde, σ^2_G : varianza genotípica; σ^2_e : varianza del error; r: número de repeticiones en los que se evaluó cada carácter. De esta manera se pudo estimar la contribución que tuvo la variabilidad genotípica a la variabilidad fenotípica de cada carácter evaluado en el presente trabajo.

4. Resultados

4.1. Análisis estadístico

4.1.1. Estadísticos descriptivos

4.1.1.1. Comportamiento de las líneas parentales

En la tabla 2 se muestran los valores medios para cada carácter evaluado.

Tabla 2: Valores medios de cada línea parental para cada carácter y test de comparación de medias.

Carácter	Unidad	L5605	LP179	MDS Fisher
AP	cm	155,58	139,25	*
NHT	hojas.pl ⁻¹	18,50	18,33	ns
AFM	cm ²	3381,47	4765,83	*
IAF	m ² .m ⁻²	3,04	4,28	*
LMH	cm	67,92	81,73	*
AMH	cm	7,37	9,13	*
fRFAl _{max}	-	0,65	0,65	ns
BIO	g.pl ⁻¹	117,85	202,9	*
RGP	g.pl ⁻¹	42,05	61,27	*
NGP	granos.pl ⁻¹	189,67	222,33	ns
PG	mg.grano ⁻¹	224,34	259,54	*
IC	-	0,36	0,29	ns

*: Probabilidad asociada $p < 0,05$ del test MDS de Fisher; ns: no significativo.

AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAl_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Las líneas parentales mostraron diferencias significativas para los rasgos AP, AFM, IAF, LMH, AMH, BIO, RGP Y PG. El resto de las variables no mostraron diferencias significativas. De acuerdo a los resultados la línea parental L5605 presentó una mayor altura de planta que la línea parental LP179, la cual presentó un mayor AFM e IAF debido a mayores valores de LMH y AMH que la línea L5605. A su vez, LP179 presentó valores

mayores de RGP, debido a un mayor NGP y a un mayor PG, siendo diferentes estadísticamente los valores medios de este último atributo.

4.1.1.2. Evaluación de la población de RILs

En la tabla 3 se muestran los valores de las medidas de resumen para los caracteres evaluados.

Tabla 3: Medidas de resumen de los caracteres evaluados en la población de RILs.

Carácter	n	Media	D.E	E.E	CV	Min	Max	Mediana
AP (cm)	133	145,15	17,86	1,55	12,30	101,33	189,25	142,67
NHT (hojas.pl ⁻¹)	133	19,28	1,20	0,10	6,23	15,83	22,00	19,17
AFM (cm ²)	133	3908,36	615,74	53,39	15,75	2635,64	5716,53	3919,48
IAF (m ² .m ⁻²)	133	3,52	0,55	0,05	15,75	2,37	5,14	3,53
LMH (cm)	133	70,60	5,13	0,45	7,27	57,90	86,48	70,17
AMH (cm)	133	8,04	0,75	0,06	9,30	6,47	9,85	7,92
fRFAI _{max}	133	0,78	0,07	0,01	9,46	0,56	0,93	0,78
BIO (g.pl ⁻¹)	133	121,57	20,81	1,80	17,12	72,30	179,48	120,28
RGP (g.pl ⁻¹)	133	36,56	14,19	1,23	38,80	0,00	73,00	35,97
NGP (granos.pl ⁻¹)	133	204,70	76,18	6,61	37,22	0,00	374,33	208,00
PG (mg.grano ⁻¹)	133	178,05	27,95	2,43	15,70	83,24	249,13	181,92
IC	133	0,29	0,10	0,01	33,62	0,00	0,45	0,30

n: número de RIL evaluadas; D.E: desvío estándar; E.E: error estándar; C.V: coeficiente de variación; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Los valores medios fueron elevados para los caracteres evaluados. Esto es debido a que las condiciones climáticas fueron favorables durante el crecimiento del cultivo, con precipitaciones homogéneamente distribuidas durante el ciclo de crecimiento vegetativo, lo cual permitió que las RILs tuvieran un buen crecimiento. Esto se ve reflejado en los valores medios de AP, AFM, IAF, LMH y AMH de las mismas, lo cual les permitió interceptar un alto porcentaje de la radiación incidente. A su vez, en el período crítico las precipitaciones permitieron una elevada fijación de granos y por lo tanto esto dio lugar a los altos valores de RGP observados. En el anexo 1 se pueden observar los gráficos de precipitaciones y temperaturas durante el ciclo del cultivo.

4.1.2. Prueba de normalidad de la distribución fenotípica

En la tabla 4 se muestran los resultados del test de normalidad.

Tabla 4: Prueba de Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados.

Carácter	n	Asimetría	Kurtosis	N _{sw}
AP (cm)	133	0,18	-0,10	ns
NHT (hojas.pl ⁻¹)	133	-0,08	-0,03	ns
AFM (cm ²)	133	0,48	0,31	ns
IAF (m ² .m ⁻²)	133	0,48	0,31	ns
LMH (cm)	133	0,34	0,33	ns
AMH (cm)	133	0,40	-0,28	*
fRFAI _{max}	133	-0,57	0,32	ns
BIO (g.pl ⁻¹)	133	0,38	0,07	ns
RGP (g.pl ⁻¹)	133	-0,04	-0,19	ns
NGP (granos.pl ⁻¹)	133	-0,33	-0,52	ns
PG (mg.grano ⁻¹)	133	-0,09	0,23	ns
IC	133	-0,69	-0,15	*

*: probabilidad asociada $p < 0,01$; ns: no significativo; n: número de RIL evaluadas; N_{sw}: test de Shapiro-Wilks modificado; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

La normalidad de la distribución fue confirmada para la mayoría de los datos evaluados como, AP, NHT, LMH, AFM, IAF, fRFAI_{max}, BIO, RGP, NGP y PG ya que la probabilidad asociada del test estadístico resultó mayor a 0,01. No así para AMH e IC para los cuales el test estadístico resultó menor a 0,01. Debido a esto se transformaron los datos mediante escores normales. En el anexo 2 se pueden observar los histogramas de distribución fenotípica para los caracteres evaluados.

4.1.3. Análisis de las segregaciones transgresivas

En la tabla 5 se muestran los resultados del análisis de segregación de la población de RILs con respecto a las líneas parentales.

Tabla 5: Segregación transgresiva de los caracteres evaluados.

Carácter	Unidad	ST _w
AP	(cm)	**
NHT	(hojas.pl ⁻¹)	**
AFM	(cm ²)	**
IAF	(m ² .m ⁻²)	**
LMH	(cm)	**
AMH	(cm)	**
fRFAI _{max}	-	**
BIO	(g.pl ⁻¹)	*
RGP	(g.pl ⁻¹)	**
NGP	(granos.pl ⁻¹)	**
PG	(mg.grano ⁻¹)	*
IC	-	**

STw: prueba de segregación transgresiva según Wolyn *et al* (2004); **: Segregación transgresiva hacia ambos extremos de la distribución; *: segregación transgresiva hacia un extremo de la distribución; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

La mayoría de los caracteres mostraron segregación transgresiva hacia ambos extremos de la distribución fenotípica, excepto BIO y PG que mostraron segregación transgresiva hacia un extremo de la distribución, debido a que la línea parental LP179 mostró los valores mayores para estos caracteres.

4.1.4. Análisis de correlaciones fenotípicas

En la tabla 6 se muestran los resultados correspondientes al análisis de correlación entre caracteres.

Tabla 6: Estimación de las correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados.

	AP	NHT	LMH	AMH	AFM	IAF	fRFAl _{max}	BIO	RGP	NGP	PG	IC
AP	1	***	***	*	*	*	***	**	ns	ns	ns	ns
NHT	0,31	1	**	ns	***	***	***	***	ns	ns	ns	ns
LMH	0,39	0,27	1	ns	***	***	***	**	ns	ns	ns	**
AMH	-0,21			1	***	***	ns	***	ns	*	ns	ns
AFM	0,19	0,52	0,67	0,63	1	***	***	***	ns	ns	ns	ns
IAF	0,19	0,52	0,67	0,63	1	1	***	***	ns	ns	ns	ns
fRFAl _{max}	0,29	0,32	0,39		0,41	0,41	1	ns	ns	ns	ns	ns
BIO	0,26	0,30	0,26	0,35	0,53	0,53		1	***	***	***	***
RGP								0,67	1	***	***	***
NGP				0,17				0,52	0,91	1	ns	***
PG								0,39	0,34		1	*
IC			-0,24					0,34	0,90	0,89	0,21	1

Valor de probabilidad asociado *** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05; ns: no significativo; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAl_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

El RGP correlacionó con NGP, PG, IC y con BIO. No así con AFM ni con IAF, los cuales correlacionaron con AP, NHT, LMH, AMH, fRFAl_{max} y BIO. Los genotipos que presentaron los valores mayores para los caracteres asociados con la captura de luz (AP, NHT, LMH, AFM, IAF) mostraron una mayor interceptación de radiación incidente (fRFAl_{max}) y mayores valores de biomasa en madurez fisiológica. Sin embargo, estos valores mayores de fRFAl_{max} no se tradujeron en mayores valores de RGP, tal como se muestra en las correlaciones.

4.1.5. Análisis de la variabilidad genética

En la tabla 7 se muestran los resultados correspondientes a la determinación de la variabilidad a nivel de genotipos y el efecto de cada una de la fuente de variación sobre los caracteres.

Tabla 7: Análisis de la variabilidad genotípica existente para cada carácter.

Carácter	R ²	CV	FV	CM	F-valor	p-valor
AP	0,91	5,36	Bloque	1908,11	31,48	<0,0001
			Genotipo	630,48	10,40	<0,0001
			Error residual	60,62		
NHT	0,92	2,72	Bloque	12,99	47,46	<0,0001
			Genotipo	2,85	10,43	<0,0001
			Error residual	0,27		
AFM	0,89	3,94	Bloque	62,14	10,33	0,0016
			Genotipo	48,02	7,98	<0,0001
			Error residual	6,02		
IAF	0,89	3,93	Bloque	0,06	10,18	0,0018
			Genotipo	0,04	8,00	<0,0001
			Error residual	0,01		
LMH	0,89	3,63	Bloque	125,55	19,05	<0,0001
			Genotipo	53,78	8,16	<0,0001
			Error residual	6,59		
AMH	0,87	5,15	Bloque	0,002	0,01	0,9071
			Genotipo	1,12	6,54	<0,0001
			Error residual	0,17		
fRFAI _{max}	0,71	7,47	Bloque	0,01	2,24	0,1326
			Genotipo	0,02	2,45	<0,0001
			Error residual	0,01		
BIO	0,77	14,02	Bloque	2260,87	7,70	0,0063
			Genotipo	944,62	3,22	<0,0001
			Error residual	293,62		

R²: coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación; FV: fuente de variación; CM; cuadrado medio; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica.

Continuación tabla 7.

Carácter	R ²	CV	FV	CM	F-valor	p-valor
RGP	0,78	29,2	Bloque	66,14	0,57	0,4509
			Genotipo	404,69	3,50	<0,0001
			Error residual	115,65		
NGP	0,77	28,32	Bloque	252,05	0,07	0,7850
			Genotipo	11382,23	3,37	<0,0001
			Error residual	3373,27		
PG	0,83	10,31	Bloque	1485,09	4,36	0,0388
			Genotipo	1561	4,58	<0,0001
			Error residual	340,73		
IC	0,79	24,65	Bloque	0,0024	0,49	0,4838
			Genotipo	0,018	3,66	<0,0001
			Error residual	0,005		

R²: coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación; FV: fuente de variación; CM: cuadrado medio; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Existió variabilidad genotípica significativa (<0,0001) para todos los caracteres evaluados indicando que en la población de RILs evaluada existe variabilidad genética para los caracteres asociados con la captura de luz (AFM, IAF, AP, NHT, fRFAl_{max}) y para los atributos asociados al rendimiento. Para los caracteres AP, NHT, AFM, IAF, LMH, y BIO el efecto del bloque o repetición fue significativo (p<0,05) indicando que la media de cada uno de esos caracteres fue significativamente diferente en cada una de las repeticiones.

4.1.6. Estimación de la heredabilidad en sentido estricto

En la tabla 8 se muestran los resultados correspondientes a los valores estimados de las varianzas y la heredabilidad para cada carácter.

Tabla 8: Estimaciones de los componentes de varianza y heredabilidad de cada carácter.

Carácter	σ^2_G	σ^2_e	σ^2_G/σ^2_e	σ^2_F	h^2
AP	278,09	74,30	3,74	315,24	0,88
NHT	1,24	0,36	3,44	1,42	0,87
AFM	20,81	6,46	3,22	24,04	0,86
IAF	0,018	0,006	3,00	0,021	0,86
LMH	23,15	7,51	3,08	26,90	0,86
AMH	0,47	0,17	2,76	0,555	0,84
fRFAI _{max}	0,0047	0,0066	0,71	0,0080	0,58
BIO	320,48	307,31	1,04	474,13	0,67
RGP	145,28	115,13	1,26	202,84	0,71
NGP	4032,40	3349,38	1,20	5707,09	0,70
PG	634,13	349,69	1,81	808,97	0,78
IC	0,0066	0,0049	1,35	0,0090	0,72

σ^2_G : varianza genotípica; σ^2_e : varianza del error; σ^2_G/σ^2_e : relación entre la varianza genotípica y la varianza del error; σ^2_F : varianza fenotípica; h^2 : heredabilidad en sentido estricto; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

En general se obtuvieron valores altos de heredabilidad (mayores a 0,5) para todos los caracteres, los cuales varían entre 0,58 para fRFAI_{max} a 0,88 para altura de planta. Esto indica que el mayor porcentaje de la variabilidad fenotípica observada para los caracteres evaluados en esta población, se debe al efecto de la variabilidad genotípica.

5. Discusión

El crecimiento de la población de RILs y sus líneas parentales durante el ensayo se vio favorecido por las condiciones climáticas, ya que desde la emergencia hasta inicios del período crítico llovieron 229 mm con precipitaciones homogéneamente distribuidas, lo cual hizo que las plantas no estuviesen expuestas a estrés hídrico (Anexo 1, Figura 2). Como resultado, la población de RILs presentó valores medios elevados de AP, LMH, AMH, AFM e IAF, comparados con los obtenidos por Molins *et al* (2014) en los cuales evaluaron la misma población de RILs (F₆) en la campaña 2013/2014. Las condiciones climáticas en la mencionada campaña fueron adversas desde la emergencia hasta el inicio del período crítico, con escasas precipitaciones (141 mm) y temperaturas muy elevadas, que se reflejaron en altos valores de temperatura máxima y media (31,3°C y 24,1°C). Por lo tanto, las plantas estuvieron expuestas a un estrés hídrico significativo que afectó el crecimiento vegetativo dando como resultado bajos valores medios de los caracteres asociados a la captura de luz mencionados anteriormente (88,01 cm, 54,01 cm, 6,84 cm, 2836,72 cm², 2,55 m².m⁻² para los atributos AP, LMH, AMH, AFM e IAF, respectivamente).

Los valores medios del IAF de la población de RILs y las líneas parentales son similares a los obtenidos por D'Andrea *et al.* (2006, 2013), quienes evaluaron un grupo de 12 líneas endocriadas en dos ambientes con baja y alta disponibilidad de nitrógeno. Con una densidad de 7 plantas.m⁻² obtuvieron valores de IAF comprendidos entre 2,4 y 4,3 m².m⁻² en condiciones de alta disponibilidad de nitrógeno. En cuanto a la interceptación de la radiación fotosintéticamente activa incidente, D'Andrea *et al.* (2006, 2013) registraron valores en un rango comprendido entre 0,59 y 0,90. En el presente trabajo el valor medio de fRFAI de las RILs fue mayor (0,78). Los valores reportados en esta tesis, al igual que en los trabajos de D'Andrea *et al.* (2006, 2013) muestran que en ningún caso las líneas evaluadas alcanzaron el IAF crítico, es decir cuando interceptan al menos el 95% de la radiación incidente.

Los valores medios de RGP de la población de RILs y de sus líneas parentales fueron mayores a los obtenidos por Molins *et al.* (2014), quienes obtuvieron 14,50 g.pl⁻¹ debido al estrés hídrico sufrido por las plantas no solo durante el crecimiento vegetativo, sino también en el inicio del período crítico. Sin embargo, los valores medios de RGP obtenidos en esta tesis (36,56) son inferiores a los obtenidos por D'Andrea *et al* (2006), quienes registraron un valor máximo de 100,5 g.planta⁻¹, posiblemente debido a que las

condiciones hídricas de su experimento fueron controladas.

Una de las posibles causas de que exista segregación transgresiva es la presencia de alelos que suman y restan para los valores medios de los caracteres en ambas líneas parentales y, como resultado de la segregación de estos, en la descendencia surjan variantes que poseen mayor número de alelos que suman en algunas líneas recombinantes y que restan en otras, dando como resultado genotipos superiores e inferiores a sus parentales (Rieseberg *et al.*, 1999). Además, dado que la frecuencia de recombinantes aumenta a medida que se incrementa el número de rondas de recombinación, el método SSD utilizado para la construcción de la población de RILs, es un método que permite generar una alta proporción de genotipos transgresivos (Kuczynska *et al.*, 2007). En el presente trabajo, el método utilizado para analizar las segregaciones transgresivas fue el propuesto por Wolyn *et al.* (2004) el cual tiene en cuenta el error estándar. Li *et al.* (2013) definieron el fenómeno de segregación transgresiva cuando al menos el 10% de las RILs muestran valores que se encuentran por fuera del rango comprendido por las líneas parentales. Si en el presente trabajo se hubiese aplicado el criterio mencionado por estos autores se hubieran obtenido resultados similares.

El hecho de que haya existido segregación transgresiva para el área foliar y los caracteres que componen este atributo, prueba que las líneas parentales no son estrictamente contrastantes para los mismos. Sin embargo, ambas líneas presentaron diferencias estadísticamente significativas para estos rasgos, lo cual las hace aptas para la generación de una población de RILs con los fines de llevar a cabo un mapeo genético mediante la previa evaluación de los mismos (Collard *et al.*, 2005).

Entre las causas de la baja h^2 en un carácter pueden mencionarse, la fuerte respuesta del mismo a las condiciones ambientales y errores durante el muestreo y la toma de datos. La primera de estas causas no se toma en cuenta debido a que la población de RILs y sus parentales se evaluó en un solo ambiente. La posible menor precisión en lo que respecta a la evaluación fenotípica en algunos caracteres puede conducir a un mayor valor de σ^2_e . En esta tesis el menor valor de h^2 estimado fue para el carácter $fRFAl_{max}$ (0,58), debido a que la σ^2_e presentó un mayor valor estimado que la σ^2_G , sugiriendo que la toma de datos de este atributo posiblemente no fue muy precisa en comparación con el resto de los caracteres, en los cuales la relación σ^2_G/σ^2_e obtenida fue alta, con valores menores de σ^2_e con respecto a los valores de σ^2_G estimados y por lo tanto con altas estimaciones de h^2 (Tabla 8).

Molins *et al.* (2015) utilizando la misma población de RILs F_6 obtuvieron valores de h^2 para AP (0,64), AFM (0,45), $fRFAI_{max}$ (0,34), BIO (0,52) y RGP (0,53) muy inferiores a los obtenidos en este trabajo. Tang *et al.* (2007) utilizando 294 RILs F_8 evaluadas en tres ambientes con tres repeticiones obtuvieron valores de h^2 para AP (0,92) y NHT (0,94) superiores a los informados en este trabajo. Por su parte, Cai *et al.* (2012) utilizando 218 RILs F_8 evaluadas en dos ambientes obtuvieron valores de h^2 para los caracteres AFM (0,49) y RGP (0,36) inferiores a los obtenidos en este trabajo.

Teniendo en cuenta los resultados arrojados por las correlaciones fenotípicas, se observó que los genotipos con mayor área foliar e IAF, debido a hojas de mayor tamaño (LMH y AMH), con un mayor número de hojas totales y mayor altura de planta, lograron interceptar un mayor porcentaje de la radiación incidente. Sin embargo la mayor intercepción de la radiación no se relacionó con mayor producción de biomasa en madurez fisiológica y tampoco con rendimiento (Tabla 6). Aunque no se haya obtenido una correlación significativa entre $fRFAI$ con BIO y RGP, los caracteres asociados a la captura de luz presentaron una correlación significativa con BIO, lo cual podría indicar que la ausencia de correlación entre $fRFAI$ y BIO obtenida en esta tesis se debe a imprecisiones en el registro de $fRFAI$. Otra posible explicación para este resultado es que la eficiencia en el uso de la radiación por parte de las RILs no haya sido lo suficientemente elevada para que aquellos genotipos que interceptaron un mayor porcentaje de la radiación incidente generaran una mayor cantidad de materia seca en madurez fisiológica. Estas observaciones no coinciden con las informadas por Molins *et al.* (2014), quienes mediante el análisis de las correlaciones fenotípicas observaron que los genotipos que interceptaron un mayor porcentaje de la radiación incidente, posiblemente debido a una mayor tasa de crecimiento de las plantas durante el periodo crítico, pudieron fijar un mayor número de granos, con una mayor producción de biomasa en madurez fisiológica y consecuentemente un mayor rendimiento.

Dado que el rendimiento es el producto entre la biomasa producida por el cultivo en madurez fisiológica y la proporción de esa biomasa destinada a la producción de granos (IC), una de las posibles estrategias que surge para aumentar el rendimiento es el aumento en la producción de biomasa, siempre que el IC no disminuya. Debido a la alta correlación significativa entre biomasa y el IAF, para aumentar la biomasa en madurez fisiológica sería conveniente aumentar el IAF mediante el mejoramiento de los atributos que lo determinan (LMH y AMH) los cuales también presentaron una correlación positiva con biomasa. Sin embargo habría que tener en cuenta que al aumentar la LMH podría

disminuir el IC por la leve correlación negativa entre estos rasgos (Tabla 6), por lo que obtendríamos una mayor producción de biomasa sin generar un mayor rendimiento. Por lo tanto, al considerar un posible mejoramiento en el IAF a partir de los caracteres que lo componen, para obtener una respuesta positiva en la producción de biomasa, sería más apropiado tener en cuenta el AMH, dado que no presentó una correlación negativa con el IC.

Las estrategias que surgen de este trabajo para aumentar el rendimiento a partir de un aumento en la producción de biomasa, son propuestas a partir de los resultados obtenidos del análisis de correlaciones fenotípicas. Sin embargo, al analizar las asociaciones entre caracteres es más importante considerar sus correlaciones genotípicas, debido a que en los valores estimados de las correlaciones fenotípicas se encuentra incluida la correlación ambiental. Las correlaciones genotípicas son importantes para determinar el grado de asociación entre dos caracteres y son útiles si la selección indirecta da una mayor respuesta que la selección directa para un determinado carácter. En cuanto a las causas de una correlación alta entre dos rasgos, la pleiotropía, es decir la presencia de genes que tienen efecto sobre más de un carácter y el ligamiento genético, son las causas principales de una correlación significativa. Esto último hace referencia a la presencia de genes que se encuentran cercanos físicamente, cada uno de los cuales tiene efecto sobre un carácter y por lo tanto son heredados de manera conjunta durante la segregación (Hallauer *et al.*, 2010).

Por su parte, el rendimiento correlacionó positivamente con los atributos que lo determinan (NGP y PG), siendo más importante el NGP que el PG. También presentó una correlación positiva con IC y BIO siendo mayor el coeficiente estimado para el primero de los rasgos mencionados. Sin embargo, no correlacionó con los caracteres asociados a la captura de luz (AP, NHT, AFM, IAF, LMH y AMH). Esto difiere con los resultados reportados por Molins *et al.* (2014), quienes observaron que el rendimiento correlacionó positivamente con el IAF y los atributos que lo determinan (LMH y AMH).

Si bien el área foliar no presentó una correlación significativa con el rendimiento, la alta heredabilidad estimada para este atributo y sus caracteres componentes permitirían llevar a cabo una selección de los mismos con el objetivo de mejorar la interceptación de radiación, dada la correlación significativa entre estos últimos.

6. Conclusiones

Se confirmó la existencia de variabilidad genotípica asociada al carácter área foliar y para los demás caracteres evaluados en la población de líneas endocriadas recombinantes bajo estudio.

El área foliar correlacionó de manera positiva con la producción de biomasa aérea en madurez fisiológica, pero no presentó un efecto significativo sobre el rendimiento dando como resultado la aceptación de la primera parte de la hipótesis pero no de la segunda.

Para casi todos los caracteres evaluados existieron segregaciones transgresivas de un grupo de RILs con respecto a las líneas parentales, hacia ambos extremos de la distribución fenotípica, excepto para los rasgos BIO y PG que mostraron segregación hacia un extremo de la distribución.

La heredabilidad estimada para los caracteres asociados a la captura de luz (AP, NHT, AFM, IAF, LMH y AMH) fue elevada, demostrando que la mayor proporción de la variación fenotípica de estos atributos se debe a la presencia de variabilidad genotípica asociada a los mismos. Esto facilita la selección de genotipos con el objetivo de mejorar la intercepción de la radiación en maíz mediante el mejoramiento de los caracteres que determinan este comportamiento.

7. Bibliografía

- Andrade, F.H., Cirilo, A.G., Uhart, S. y Otegui, M.E. (1996).** “Ecofisiología del cultivo de maíz”. Editorial La Barrosa y Dekalb Press. ISBN 987-96163-0-8.
- Andrade, F.H., Vega, C., Uhart, S.A., Cirilo, A.G., Cantarero, M. and Valentinuz, O. (1999).** “Kernel number determination in maize”. *Crop science*. 39: 482-485.
- Andrade, F.H., Otegui, M.E. and Vega, C. (2000).** “Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize”. *Agron. J.* 92: 92-97.
- Bolsa de comercio de Rosario (2018).** Disponible en <http://www.bcr.com.ar/Pages/GEA/default.aspx>. Consultado el día 20 de junio de 2018.
- Cai, H., Chu, Q., Yuan, L., Liu, J., Chen, X., Chen, F., Mi, G. and Zhang, F. (2012).** “Identification of quantitative trait loci for leaf area and chlorophyll content in maize (*Zea mays* L.) under low nitrogen and low phosphorous supply”. *Molecular Breeding*, 30: 251–266. DOI 10.1007/s11032-011-9615-5.
- Cassman, K.G., Dobermann, A., Walters, D.T. and Yang, H. (2003).** “Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality”. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 28: 315–358.
- Cirilo, A.G. and Andrade, F.H. (1994).** “Sowing date and maize productivity. II. Kernel number determination”. *Crop Science*. 34: 1044-1046.
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B. and Pang, E.C.K. (2005).** “An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts”. *Euphytica*, 142: 169-196.
- D’Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. and Eyhérabide, G. (2006).** “Genotypic Variability in Morphological and Physiological Traits among Maize Inbred Lines-Nitrogen Responses”. *Crop Science* 46: 1266-1276.
- D’Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo A.G. and Eyhérabide, G. (2009).** “Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels”. *Field Crops Research* 114: 147-158.
- D’Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. and Eyhérabide, G.H. (2013).** “Parent–Progeny relationships between maize inbreds and hybrids: analysis of grain yield and its determinants for contrasting soil nitrogen conditions”. *Crop Sci.* 53: 2147-2161.
- D’Andrea, K.E., Piedra, C.V., Mandolino, C.I., Bender, R., Cerri, A.M., Cirilo, A.G. and Otegui, M.E. (2016).** “Contribution of reserves to kernel weight and grain yield determination in maize: phenotypic and genotypic variation”. *Crop Sci.* 56 (2): 697-706.

- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. (2015).** “InfoStat versión 2015”. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Duvick, D.N., Smith, J.S.C. and Cooper, M. (2004).** “Long-term selection in a commercial hybrid maize breeding program”. p. 109–151. *In* J. Janick (ed.) Plant breeding reviews, Vol. 24, Pt. 2. John Wiley & Sons, New York.
- Edmeades, G.O. and Daynard, T.B. (1979).** “The relationship between final yield and photosynthesis at flowering in individual maize plants”. *Canadian Journal of Plant Science*. 59: 585-601.
- Eyhéabide, G.H. (2015).** “Evolución y cambios recientes de los rendimientos medios nacionales del cultivo de maíz en Argentina”. *RTA revista de tecnología agropecuaria*. ISSN digital 2469-164 X Vol. 10 N° 29.
- FAO (2002).** “Agricultura mundial: Hacia los años 2015/2030”. Producido por: Departamento Económico y Social. ISBN 92-5-304761-5
- Fischer, R.A. and Edmeades, G.O. (2010).** “Breeding and cereal yield progress”. *Crop Science*, 50: 85-98.
- Fisher, K.S. and Palmer F.E. (1984).** “Tropical maize. *In*: The Physiology of tropical field crops”. Ed. By P.R. Golds-Worthy and N.M. Fisher.
- Gallagher, J.N. and Biscoe, P.V. (1978).** “Radiation absorption, growth and yield of cereals”. *J. Agric. Sci.* 91: 47-60.
- Gardner, F.P., Pearce, R.B. and Mitchel, R.L. (1985).** “Physiology of crop plants”. Iowa State University Press. USA. 327p.
- Hallauer, A.R., Carena, M.G. and Filho, J.B.M. (2010).** “Quantitative Genetics in maize breeding”. *In*: Handbook of plant breeding. ISBN 978-1-4419-0765-3 and ISBN 978-1-4419-0766-0, DOI 10.1007/978-1-4419-0766-0.
- Hawkins, R.C. and Cooper, J.M. (1981).** “Growth development and grain yield of maize”. *Explore of agricultura*. 17: 203-207.
- Hesketh, J. (1963).** “Limitations to photosynthesis responsible for differences among species”. *Crop Sci.* 3: 493-496.
- Holland, J.B., Nyquist, W.E. and Cervantes-Martínez, C.T. (2003).** “Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update”. *Plant Breed. Rev.* 22:9–112.
- Kiniry, J.R. and Knievel, D.P. (1995).** “Response of maize seed number to solar radiation intercepted soon after anthesis”. *Agronomy journal*. 87: 228-234.
- Ku, L., Cao, L., Wei, X., Su, H., Tian, Z., Guo, S., Zhang, L., Ren, Z., Wang, X., Zhu, Y.,**

- Li, G., Wang, Z. and Chen, Y. (2015).** “Genetic dissection of internode length above the uppermost ear in four RIL populations of maize (*Zea mays* L.)”. *Genes/Genomes/Genetics*, Volume 5, p. 281-289.
- Kuczynska, A., Surma, M. and Adamski, T. (2007).** “Methods to predict transgressive segregation in barley and other self-pollinated crops”. *Journal of Applied Genetics*. 48 (4), pp. 321–328.
- Li, L., Petsch, K., Shimizu, R., Liu, S., Xu, W.W., Ying, K., Yu, J., Scanlon, M.J., Schnable, P.S., Timmermans, M.C.P., Springer, N.M. and Muehlbauer, G.J. (2013).** “Mendelian and non-mendelian regulation of gene expression in maize”. *Plos Genet* 9 (1): e1003202. doi:10.1371/journal.pgen.1003202.
- Lindquist, J.L., Arkebauer, T.J., Walters, D.T., Kenneth, G.C. and Dobermann, A. (2005).** “Maize radiation use efficiency under optimal growth conditions”. *Agronomy Journal*, v.97, p.72-78.
- Maddonni, G.A. and Otegui, M.E. (1996).** “Leaf area, light interception and crop development in maize”. *Field crops Res.* 48: 81-87.
- Mirabilio, V., D’Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. y Eyhéabide, G. (2010).** “Variabilidad genotípica en líneas endocriadas recombinantes de maíz: I- estudio de la heredabilidad para los determinantes ecofisiológicos del rendimiento”. IX Congreso Nacional de Maíz. Trabajos presentados. Genética, mejoramiento y biotecnología. Pág. 353-355.
- Molins, L.G., Amas, J., Gloriani, F., Mroginski, E., Cirilo, A.G. y Eyhéabide, G. (2014).** “Variabilidad fenotípica de caracteres asociados a captación de radiación en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz”. Presentado en X Congreso Nacional de Maíz. 3 al 5 de septiembre de 2014 en la Bolsa de Comercio de la ciudad de Rosario, Argentina.
- Molins, L.G., Mroginski, E., Cirilo, A.G. y Eyhéabide, G.H. (2015).** “Variabilidad genética de caracteres de la captura de luz en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz”. Presentado en XLIV Congreso Argentino de Genética. 13 al 16 de septiembre de 2015, en la ciudad de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Montgomery, E.G. (1911).** “Correlation studies in corn”. *Neb. Agric. Exp. Stn. Annu. Rep.* 24: 108-159.
- Monteith, J.L. (1977).** “Climate and the efficiency of crop production in Britain”. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 281: 277-297.
- Otegui, M.E. and Bonhomme R. (1998).** “Grain yield components in maize I. Ear growth

and kernel set". *Field Crops Research*, 56: 247-256.

Paliwal, R.L. (2001). "Introducción al maíz y su importancia". En: "El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción". Autor principal: Paliwal, R.L.

Pepper, G.E., Perce, R.B. and Mock, J.J. (1977). "Leaf orientation and yield of maize". *Crop Sci.* 17: 883-886.

Rieseberg, L.H., Archer, M.A. and Wayne, R.K. (1999). "Transgressive segregation, adaptation and speciation". *Heredity*, 83: 363-372.

Roderick, H. (1981). "Plant growth analysis". The Institute of Biology's. *Studies in Biology*, 96, University of Sheffield.

Satorre, E.H., Benech Arnold, R.L., Slafer, G.A., De la Fuente, E.B., Miralles, D.J., Otegui, M.E. y Savin, R. (2003). "Producción de granos". Facultad de agronomía ISBN 950-29-0713-2.

SAS Institute (1999). "The SAS Online Doc v.9". SAS Institute Cary N.C.

Searle, S.R., Casella, G. and McCulloch, C.E. (1992). "Variance components". Chapter 6. "Maximum likelihood (ML) and restricted maximum likelihood (REML)". Pp. 232-257. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. ISBN-I 3 978-0-470-00959-8.

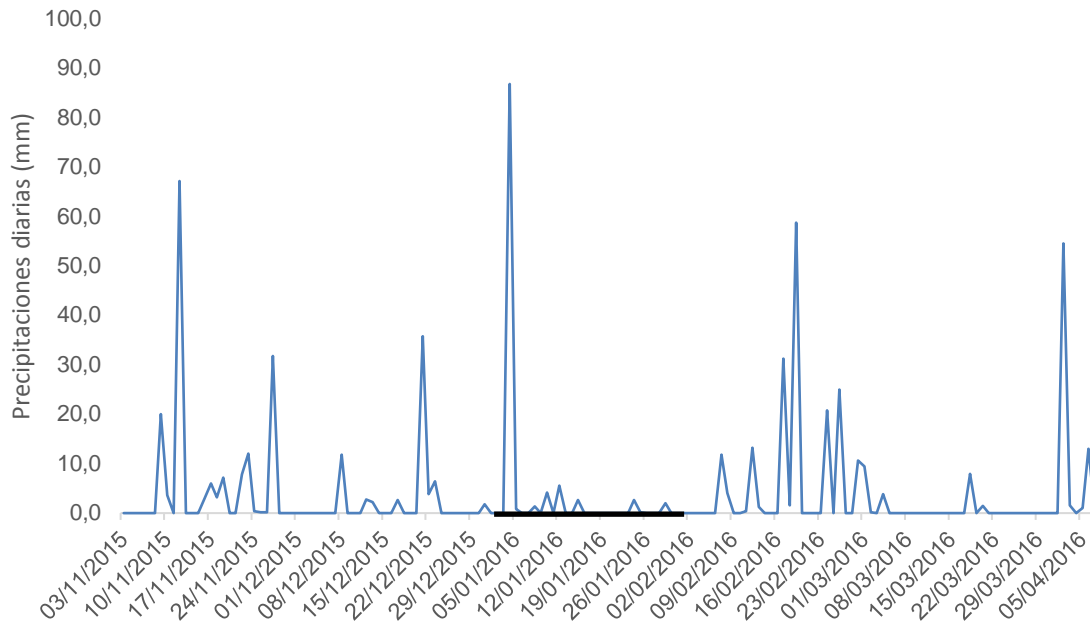
Tang, J.H., Teng, W.T., Yan, J.B., Ma, X.Q., Meng, Y.J., Dai, J.R. and Li, J.S. (2007). "Genetic dissection of plant height by molecular markers using a population of recombinant inbred lines in maize". *Euphytica*, 155: 117-124.

Vega, C.R., Valentinuz, O.R., Uhart, S.A. y Andrade, F.H. (1997). "Rendimiento en grano por planta y estabilidad del índice de cosecha en función del tamaño de planta en soja, girasol y maíz". VI Congreso Nacional de Maíz. AIANBA, Pergamino, Argentina. Tomo II, pp. 20-24.

Wolyn, D.J., Borevitz, J.O., Loudet, O., Schwartz, C., Maloof, J., Ecker, J.R., Berry, C.C. and Chory, J. (2004). "Light-Response Quantitative Trait Loci Identified with Composite Interval and extreme Array Mapping in *Arabidopsisthaliana*". *Genetics*, 167: 907-917.

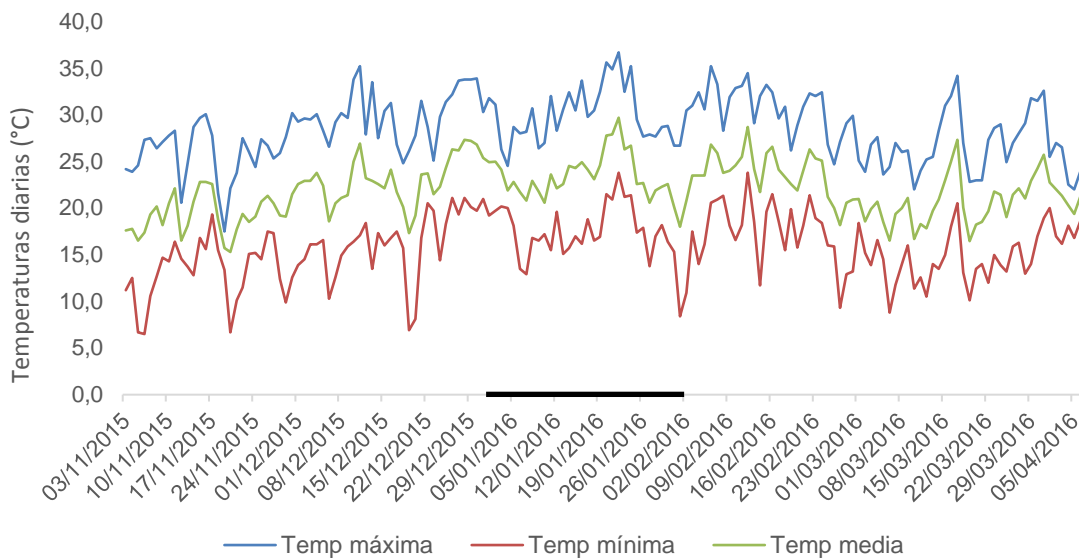
Anexo 1

Figura 2: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo.



La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 3: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el ciclo del cultivo.

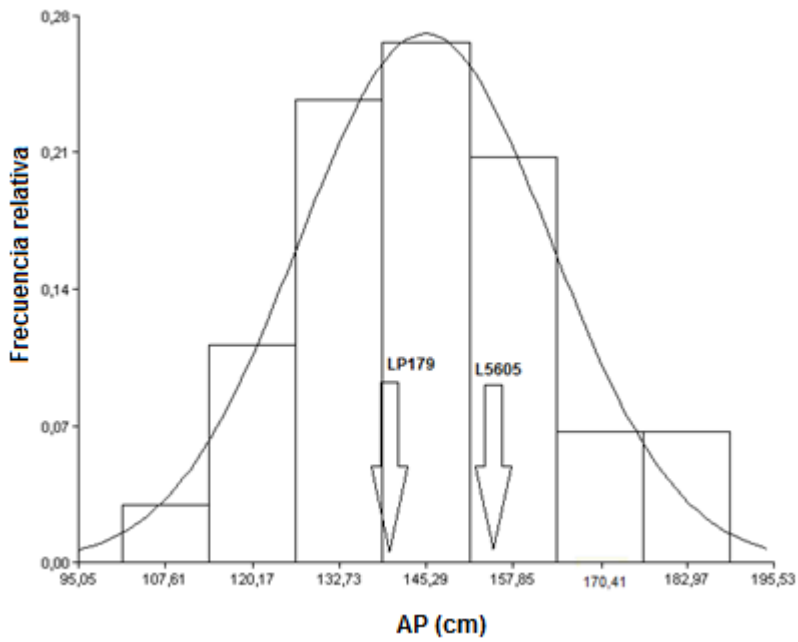


La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

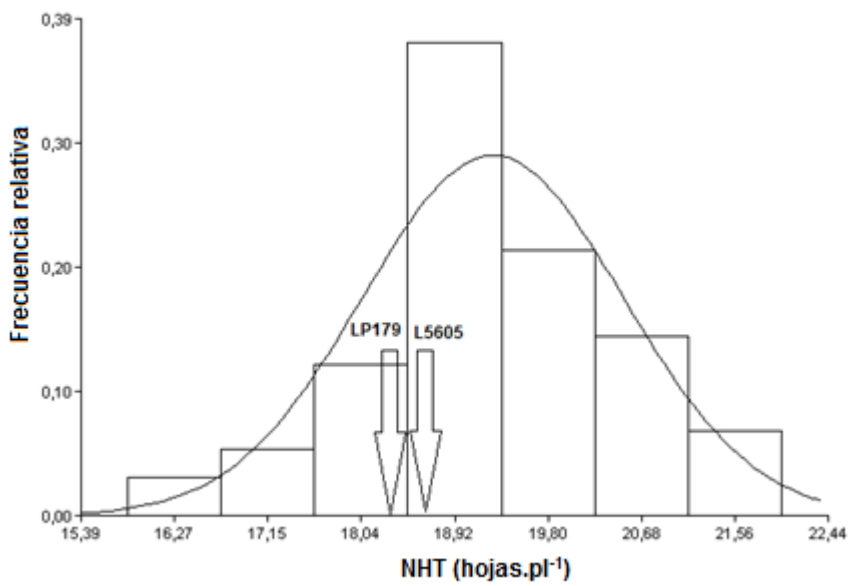
Anexo 2

Figura 4: Histogramas de frecuencia relativa de los caracteres evaluados.

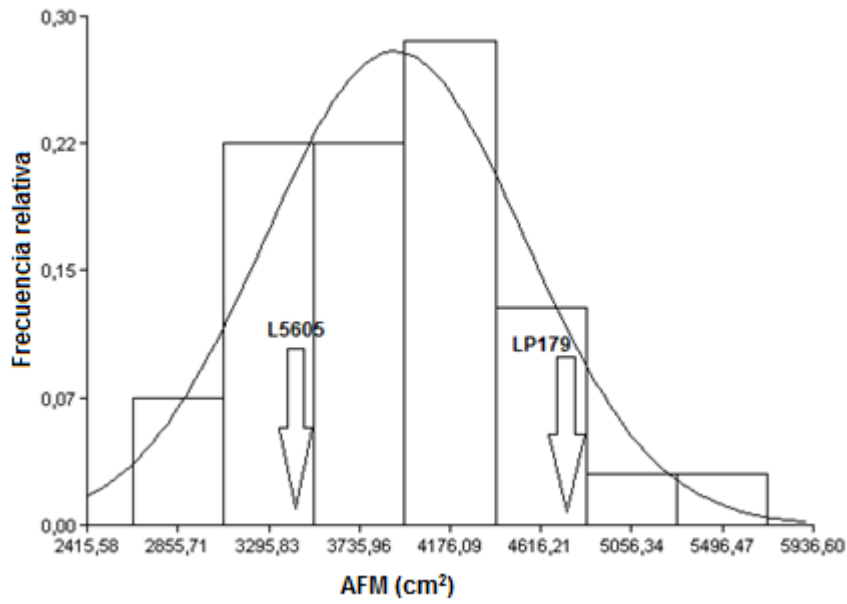
I. Altura de planta.



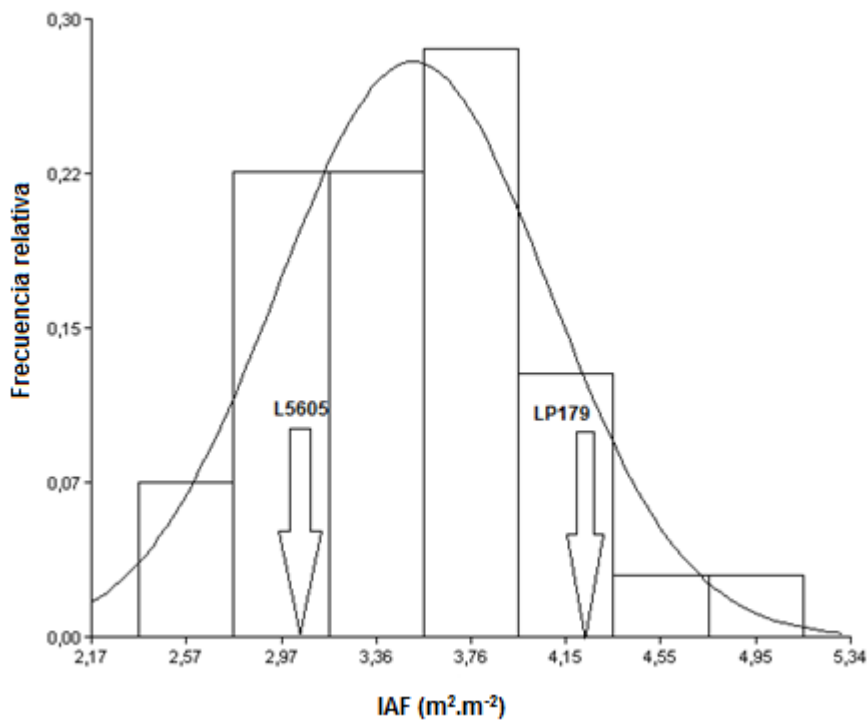
II. Número de hojas totales.



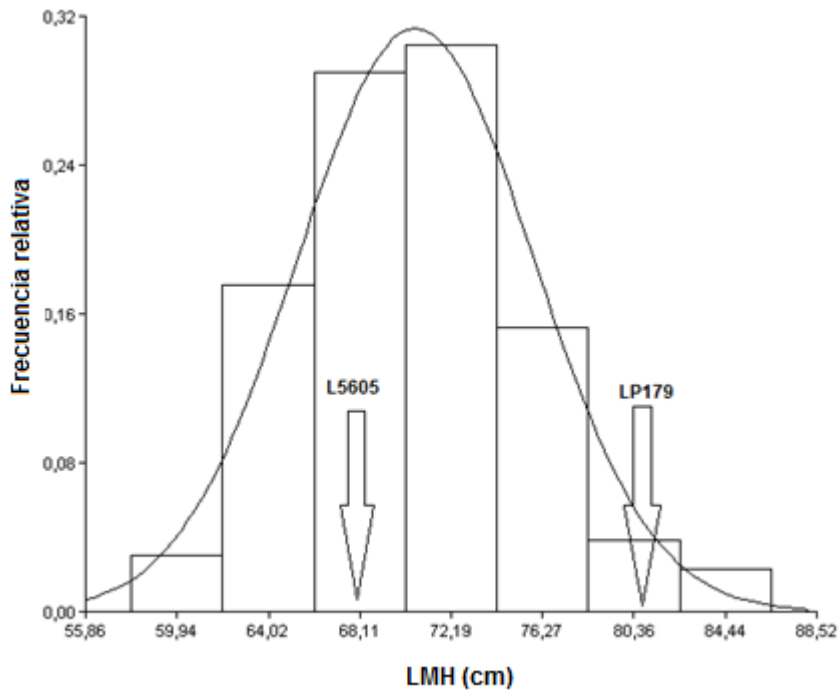
III. Área foliar máximo por planta en floración.



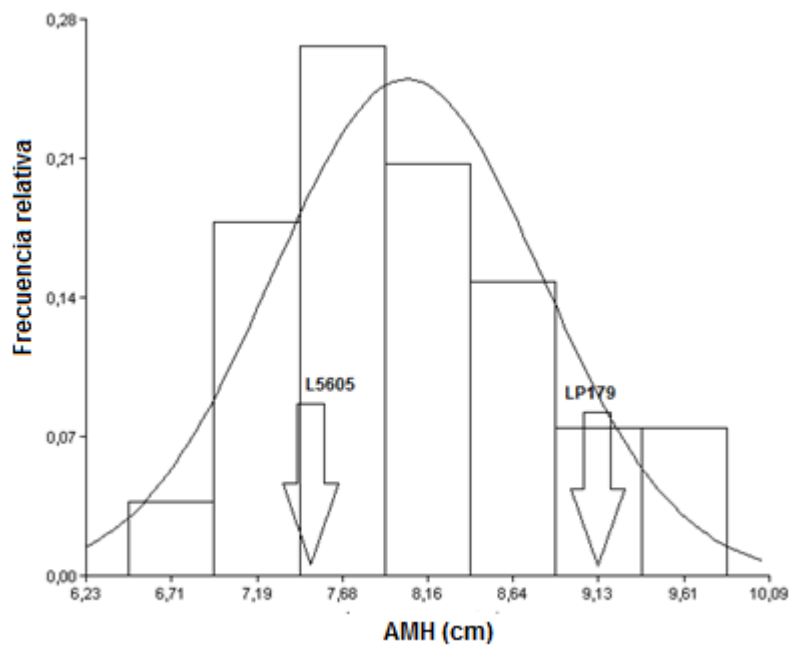
IV. Índice de área foliar máximo en floración.



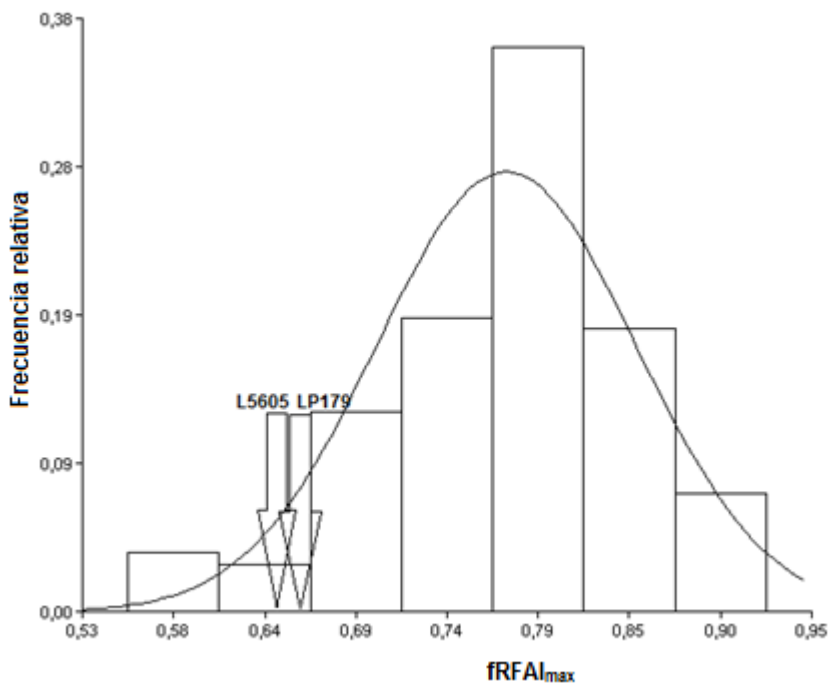
V. Longitud máxima de la hoja.



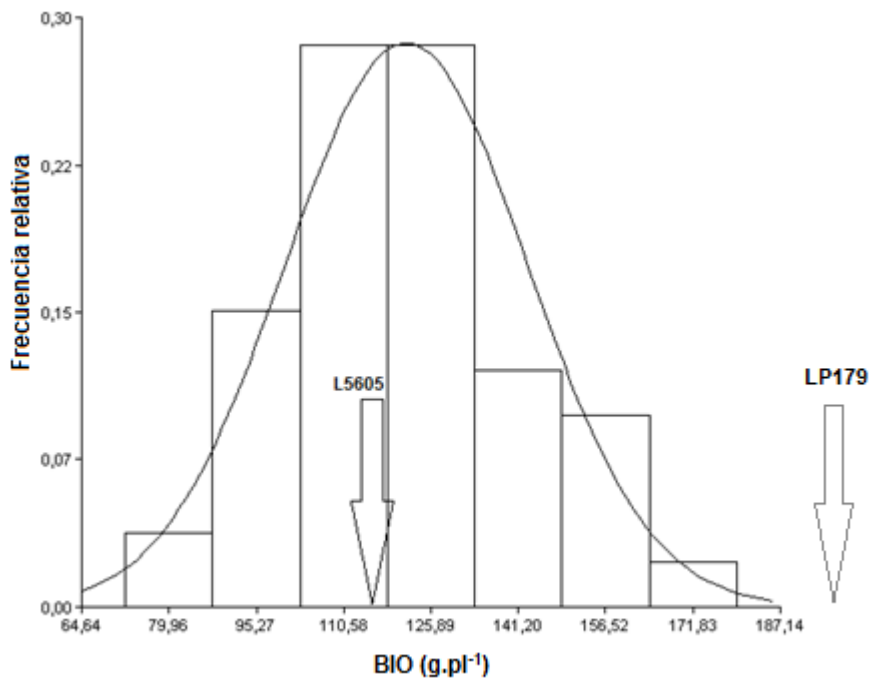
VI. Ancho máximo de la hoja.



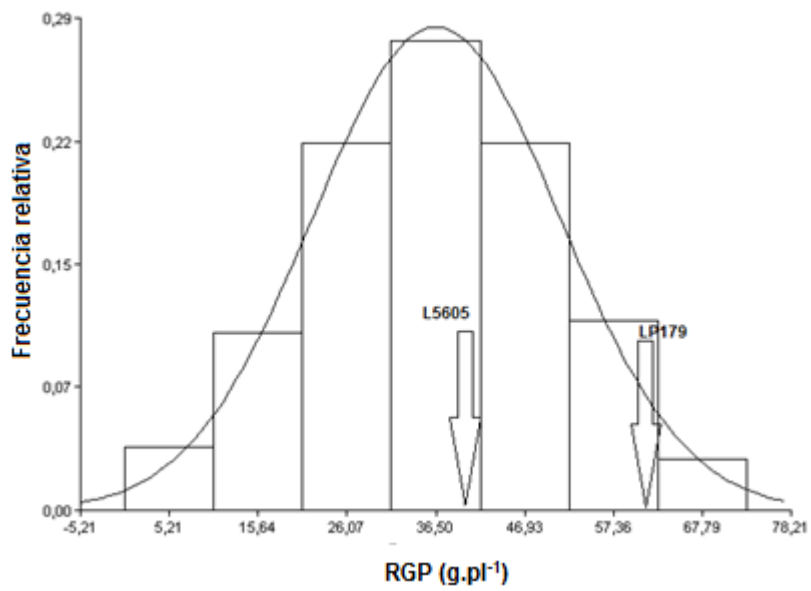
VII. Fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo en floración.



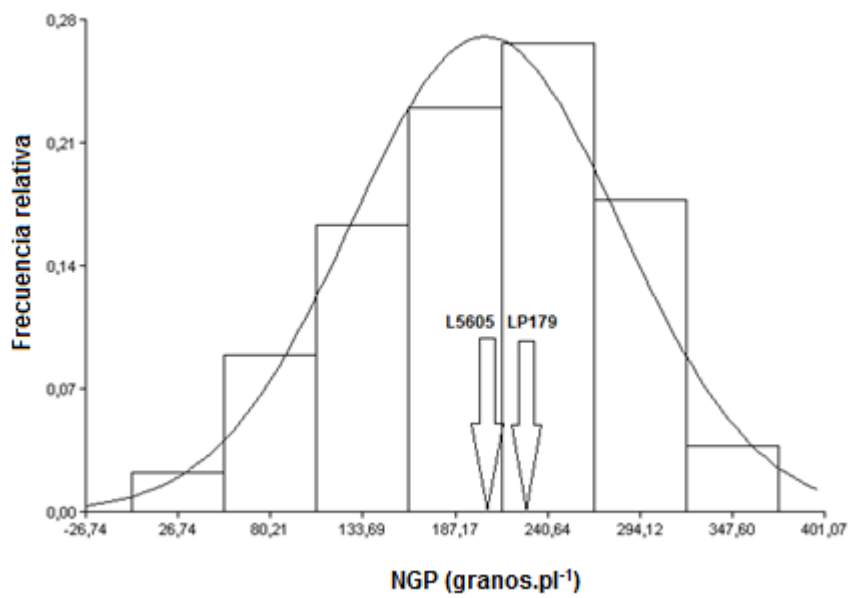
VIII. Biomasa aérea en madurez fisiológica.



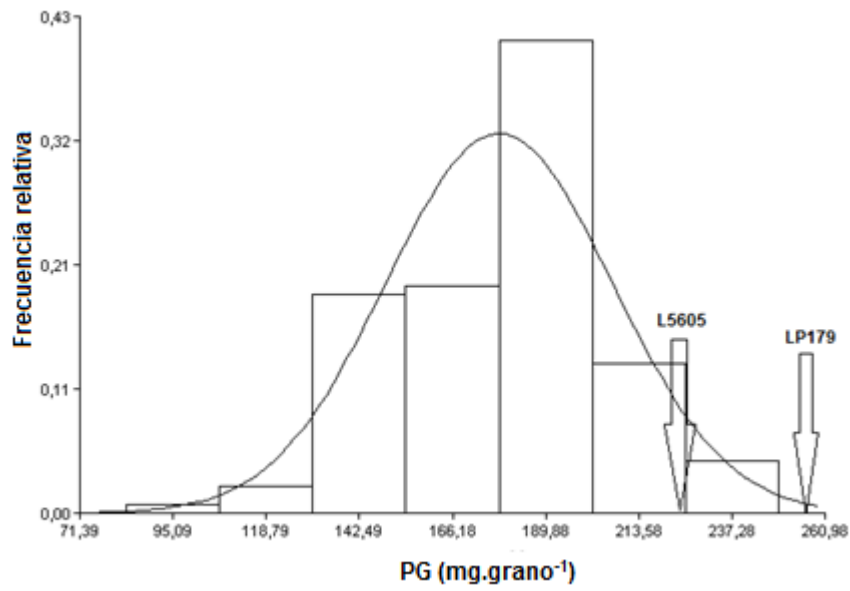
IX. Rendimiento en granos por planta.



X. Número de granos por planta.



XI. Peso del grano.



XII. Índice de cosecha.

