EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES LOCALES DE MAÍZ FRENTE A ESTRÉS SALINO.

Trabajo Final de Grado

del alumno

PISANI LEANDRO FERNANDO

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, 23 de octubre de 2020

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES LOCALES DE MAÍZ FRENTE A ESTRÉS SALINO.

Trabajo Final de Grado

del alumno

PISANI LEANDRO FERNANDO

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

Emilce Martínez
Co-Director

Raquel Defacio
Director

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 23 de octubre de 2020

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia quiero agradecer a mis padres ya que sin el apoyo de ellos nada de esto hubiera sido posible, a ese apoyo incondicional del día a día en mi carrera universitaria. También a mi familia en general, a mis abuelas, a mis hermanos, a mis amigos, compañeros y a cada uno de los que estuvo presente de una u otra forma en este largo camino que transité.

A la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires por formarme profesionalmente.

Estoy enormemente agradecido a EEA - INTA Pergamino por abrirme sus puertas para desarrollar esta tesina y dejarme formar parte de esa inmensa familia que los caracteriza, del excelente equipo de trabajo del cual forme parte. Especialmente al grupo de trabajo del laboratorio de semillas y a las personas que forman parte de esa área: Elizabeth, Claudio, gracias por su colaboración. También al grupo de trabajo del Banco de germoplasma de maíz por su colaboración: Fabián y Lorena.

A mi directora de tesis, Raquel Defacio, una persona extraordinaria que siempre estuvo a mi lado para acompañarme en este largo proceso. A mi codirectora de tesis, Emilce Martínez con la cual hemos compartido muchísimas experiencias en la labor. Me llevo un enorme aprendizaje de cada una de ellas, tanto personal como profesionalmente. Gracias por su constante apoyo y dedicación.

A mi amiga María del Rosario Malavolta, que siempre estuvo presente para ayudarme en lo que necesitara respecto a este trabajo.

Solo me salen palabras de agradecimiento a cada uno de ellos, por estar siempre incondicionalmente en todos los momentos en los cuales los necesite. ¡MUCHAS GRACIAS!

ÍNDICE

1. RESUMEN…….....4
2. INTRODUCCIÓN……....6
3. HIPOTESIS…….....14
4. OBJETIVOS……....14
   4.1. Objetivo general……..14
   4.2. Objetivo específicos…….....14
5. MATERIALES Y MÉTODOS……...….15
   5.1. Puesta a punto de la metodología…….…...15
   5.2. Evaluación de poblaciones locales de Maíz……...17
   5.3. Análisis estadístico……..….21
   5.4. Índice de tolerancia…….....22
   5.5. Análisis de componentes principales (ACP)……..….23
6. RESULTADOS……..…...24
   6.1. Puesta a punto de la metodología……....24
   6.2. Análisis estadísticos……....26
      6.2.1. Análisis descriptivo……...26
      6.2.2. Modelo estadístico……....27
   6.3. Varianza genética entre poblaciones……...27
   6.4. Índice de tolerancia…….....28
   6.5. Análisis de componentes principales (ACP)……...29
7. DISCUSIÓN…….....33
   7.1. Puesta a punto de la metodología……....33
   7.2. Variabilidad genética entre poblaciones……..34
   7.3. Índice de tolerancia……..…..….35
   7.4. Análisis de componentes principales (ACP)……...36
8. CONCLUSIÓN…….39
9. BIBLIOGRAFÍA……...40
10. ANEXOS…….……...….46

1. RESUMEN

El cultivo de maíz (*Zea mays L.)* es una de las principales fuentes de alimento para la humanidad. El creciente aumento en la población que se viene registrando en las últimas décadas obliga a elaborar estrategias para aumentar su producción y cubrir la futura demanda alimenticia. Una alternativa es comenzar a producir en zonas marginales con limitantes edafo-climáticas como problemas de erosión, salinidad en el suelo y sequías. La presencia de sales retrasa el desarrollo y crecimiento de este cereal. La elevada presión osmótica del suelo limita la absorción de agua durante la germinación y emergencia de plántulas. El estudio de la tolerancia a la salinidad en poblaciones locales de maíz puede contribuir a desarrollar cultivares tolerantes a condiciones de estrés salinos y/o hídrico. El Banco Activo de Germoplasma de INTA Pergamino, conserva poblaciones locales de maíz que fueron recolectadas en regiones edafo-climaticas marginales. El objetivo de este trabajo fue evaluar 44 poblaciones locales de maíz durante la fase inicial de crecimiento para identificar genotipos potencialmente tolerantes a salinidad. Los ensayos se realizaron en el laboratorio de semillas de INTA Pergamino y se consideraron tres concentraciones salinas (0, 175 y 350mM de NaCl). Dado el espacio limitado de la cámara de germinación para evaluar simultáneamente las 44 poblaciones, se realizaron 11 ensayos sucesivos conformados por cuatro poblaciones, tres niveles de sal y cuatro repeticiones. Dentro de cada ensayo, los tratamientos se dispusieron en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial. Los genotipos se consideraron como factor uno y los tratamientos salinos como factor dos. Transcurridos 21 días desde la siembra se midieron longitud y peso seco de la parte aérea y radicular. Utilizando análisis de varianza se determinó la presencia de variabilidad genética entre las poblaciones en cada tratamiento de sal. Se identificó el nivel de sal que permitió expresar la mayor variabilidad entre las poblaciones y se estimó un índice de tolerancia para detectar poblaciones de mejor performance frente a ese nivel de sal. Para comparar las poblaciones en base a su similitud se realizaron dos Análisis de Componentes Principales (ACP). Para uno de ellos se utilizaron todas las variables y tratamientos evaluados y el otro se realizó sobre el tratamiento salino que permitió expresar la máxima variabilidad entre las poblaciones. Todos los análisis diferenciaron los tres niveles del factor salinidad. El tratamiento control (0mM de NaCl) mostró los mayores valores para todas las variables y representó la variabilidad presente en las poblaciones en condiciones óptimas de crecimiento. El tratamiento con 350mM

de NaCl presentó los menores valores para todas las variables evaluadas generando un grupo muy compacto donde no pudieron diferenciarse las poblaciones. El tratamiento con concentración 175mM de NaCl presentó valores medios para todas las variables y mostró variabilidad entre las poblaciones. Esto indica que dicho tratamiento es útil para discernir cuales son las poblaciones más tolerantes a la salinidad. Utilizando el índice de tolerancia se detectó a las poblaciones ARZM12108 y ARZM18030 como las más promisorias en cuanto a tolerancia a estrés salino. Los resultados del ACP permitieron detectar aquellas poblaciones que se diferenciaban del resto, siendo las poblaciones ARZM12108 y ARZM12187 las que presentaron mayor crecimiento bajo condiciones de estrés en etapas tempranas de desarrollo.

2. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*) pertenece a la familia *Poáceas* (Gramíneas), tribu *Maydeas*, y es la única especie cultivada de este género (Acosta, 2009). Es una planta anual, con vainas foliares superpuestas y láminas alternadas y anchas. Es una especie diclino-monoica, su inflorescencia femenina es una espiga (encerradas por "chalas") cuyo tamaño puede variar de 7 a 40 cm. de largo, mientras que la inflorescencia masculina es una panoja terminal. Se propaga por semillas, la polinización es cruzada (alógama) y anemófila (Cárcova *et al*., 2003).

Este cereal es uno de los más importantes en la alimentación humana a nivel mundial y se puede obtener de él una amplia gama de productos derivados. De acuerdo al último informe sobre oferta y demanda mundial de granos realizado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 2019), se estima que para la campaña 2019/20 se producirán 987,52 millones de toneladas de maíz, mientras que la producción de trigo será de 719,95 millones de toneladas y la de arroz 476,98 millones. Estados Unidos, China, Brasil, Unión Europea y Argentina son los principales países productores, generando el 74,5% del cereal producido en el mundo (FADA, 2019). Los principales exportadores mundiales de maíz son Estados Unidos, Brasil, Argentina y Ucrania.

Por otra parte, si la población mundial sigue en aumento como lo ha hecho hasta el momento, se espera que la misma se incremente de los 6.800 millones de personas a 9.100 millones en 2050. Para cubrir la demanda alimenticia de 2.300 millones de personas más, se deberá aumentar la producción de alimentos en un 70 %, con una utilización más eficiente de los escasos recursos naturales, además de adaptarse al cambio climático (Viñas, 2012).

Una alternativa es comenzar a producir en zonas marginales con limitantes edafoclimáticas como problemas de erosión, salinidad en el suelo y sequías. No sólo es importante lograr una mayor productividad en estos ambientes, sino también, mejorar de forma lenta pero progresiva las características físicas y químicas de los suelos.

La salinización es un proceso de acumulación de sales solubles en el suelo, que afecta a unos 20-30 millones de hectáreas en todo el mundo. Argentina es el tercer país en el mundo con extensas áreas con problemas de salinización en el suelo (Puchulú, 2008). Estos ambientes se caracterizan por tener la napa freática con acumulación de sales muy

próxima a la superficie del suelo. Las principales sales involucradas en este proceso son los cloruros (Cl^-) y sulfatos (SO_4^{-2}) en especial de sodio (Na^+), y en menor medida CO_3^{-2}, CO_3H^+ de Ca^{+2} y de Mg^{+2} (Cisneros *et al.*, 2007). Un suelo salino es aquel en el cual se registra un desbalance hídrico que se produce cuando las precipitaciones son escasas y la evapotranspiración es muy alta (Rhoades y Loveday, 1990; Evans, 1998). Se caracteriza por la presencia de costras blancas en su superficie, una conductividad eléctrica mayor a 4 dS m^{-1} y un porcentaje de sodio intercambiable menor al 15 % (Pinchao Piedrahita, 2013).

La presencia de sales en la solución del suelo eleva la presión osmótica de manera que las semillas no pueden absorber el agua necesaria durante la germinación lo cual inhibe la elongación celular, reduciendo el desarrollo morfológico de las plántulas emergidas y generando la pérdida de turgencia principalmente por la acción de los iones sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-) (Suárez, 2012; Zhu, 2003).

Trabajos de investigación han demostrado una reducción de la germinación de las semillas de maíz y un retraso en el proceso de germinación a medida que se incrementaban los niveles de salinidad (Laynez-Garsaball *et al.*, 2007). Otros cultivos son afectados en el proceso de germinación por el efecto de la salinidad, como el *Agropyron elongatum* (agropiro alargado), *Antephora pubescens*, *Cenchrus ciliaris* (buffel grass) y *Panicum coloratum* (mijo perenne), donde se determinó una disminución en el porcentaje y velocidad de germinación a medida que aumenta la concentración salina (Ruiz y Terenti, 2012).

Otra forma en que la salinidad afecta a los cultivos es mediante la toxicidad derivada de la absorción directa por parte de las plantas de ciertos iones como cloruro, sodio y borato. En este caso los daños se manifiestan como quemaduras en la zona apical de las hojas, borde y parénquima entre las nervaduras, comenzando desde el ápice (Sánchez *et al.*, 2016).

Estudios realizados en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) demostraron efectos adversos sobre el proceso de germinación con el aumento de la salinidad, donde se observó que las semillas requerían 50% de días adicionales para germinar cuando se las colocaba en un medio con 80 mM de NaCl en comparación con un testigo sin sal. El exceso de sales en el suelo reduce el potencial hídrico del mismo y como consecuencia se dificulta la absorción de agua por parte de las raíces de la planta, afectando su crecimiento y provocando una disminución de la longitud radical, a la vez que desencadena desequilibrios iónicos por la excesiva absorción de sodio y cloruros teniendo como efectos

secundarios problemas de toxicidad y nutricionales. Como solución, el aporte suplementario de calcio y potasio mejora la respuesta de la planta al estrés salino. Los órganos de la parte aérea de las plantas también se alteran con la salinidad. Los tallos alcanzan una menor altura, disminuye el número de hojas y presentan clorosis y necrosis principalmente en los bordes. El número y peso de los frutos del tomate disminuye afectando tanto el rendimiento como la calidad comercial (Goykovic Cortés y Saavedra del Real, 2007).

Los suelos salinos pueden recuperarse mediante diferentes tecnologías, primero se debe controlar el ascenso del agua subterránea que es la principal fuente de aporte de sales. Luego, se puede recurrir a la utilización de enmiendas de yeso, labranza profunda, abonos orgánicos, implantación de cultivos mejorados con sistemas radicales que optimicen el drenaje y siembra directa (Taboada, 2017). Trabajos de investigación aplicados a la recuperación de suelos salinos han reportado incrementos positivos en el rendimiento de los cultivos, sin embargo estos métodos son poco rentables económicamente y de larga duración (Serrato Sánchez *et al*., 2002). Otra manera de aprovechar estos tipos de suelo de forma más rentable y duradera es mediante el mejoramiento genético, a través de la obtención de cultivos tolerantes a la salinidad.

La tolerancia a la salinidad en las plantas se define como la capacidad de sobrevivir y mantener su rendimiento en condiciones de estrés (González *et al*., 2002). Bazzigalupi *et al*. (2008), evaluaron el comportamiento germinativo de diez poblaciones de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) naturalizadas en la provincia de Buenos Aires, bajo estrés salino causado por cloruro de sodio (NaCl). Allí se destacó una población colectada en un suelo hidromórfico, la cual presentó el mayor porcentaje de germinación (64% con respecto al testigo) en 18 dSm^{-1} de conductividad eléctrica. El resto de las poblaciones evaluadas mostraron una menor incidencia germinativa al ser sometida a diferentes concentraciones salinas. Argentel *et al*. (2006), estudiaron la respuesta a la salinidad en las etapas iniciales del crecimiento en 12 variedades de trigo evaluando indicadores del crecimiento y acumulación de biomasa, para discriminar genotipos tolerantes al estrés salino. En este estudio se seleccionaron las variedades de mejor comportamiento para su posterior establecimiento en áreas afectadas. Esto demuestra la importancia de continuar con planes de mejoramiento genético de las especies cultivadas.

El maíz es considerado un cultivo sensible a la salinidad, y a su vez el más sensible de todos los cereales (Maas y Hoffman, 1977). El estrés salino provoca cambios fisiológicos

y bioquímicos en el metabolismo de las plantas, que determinan su subsistencia, así como su productividad en estas condiciones, para lo cual las plantas han desarrollado mecanismos de tolerancia. Se han desarrollado líneas isogénicas de maíz de zona templada que difieren en las tasas de acumulación de materia seca y de expansión foliar bajo condiciones salinas (Saneoka *et al*., 1995). En estas líneas, la tolerancia se ha asociado con el ajuste osmótico a través de la acumulación de glicinabetaína. Numerosos trabajos de investigación han reportado la existencia de variabilidad genética en maíz. Hoque *et al.* (2015) y Campos Flores (2015), han demostrado en sus investigaciones que en poblaciones de maíz en etapas iniciales de desarrollo, se encuentran diferencias en cuanto a la longitud de raíces y la producción de biomasa aérea ante los diferentes niveles de concentración salina en los que fueron estudiadas. Estos resultados confirman la importancia de las variables morfológicas como longitud de la raíz y la parte aérea en la identificación de la tolerancia a salinidad. Estos caracteres son relativamente fáciles de medir y serían de utilidad en programas de mejoramiento donde la cantidad de material a evaluar es grande (Collado *et al*., 2011).

En cultivares de trigo duro (*Triticum durum*) implantados en condiciones similares a un suelo salino, en un rango de concentración de sal entre 50 y 200 mM, se observó una reducción de la longitud total tanto de la raíz primaria como de las secundarias luego de 12 días de exposición al gradiente de sal (Rahnama *et al*., 2011).

El interés por mejorar la tolerancia de los cultivos a la salinidad ha crecido en los últimos años. Para seleccionar las variedades tolerantes y sensibles a la salinidad, utilizando los datos de variables morfológicas, puede calcularse el índice de tolerancia a la salinidad realizando el cociente entre la media de la variable evaluada en condiciones de estrés y la media de la misma variable evaluada sin estrés (Udovenko, 1976). Murillo-Amador *et al.* (2013), evaluaron índices de tolerancia a la salinidad de 20 variedades de albahaca *(Ocimum basilicum L.)* y Maiti *et al.* (1996) utilizaron este índice para determinar tolerancia a la salinidad en 19 genotipos de maíz.

En maíz, la implantación y el desarrollo inicial de la plántula es crítica para el cultivo, por lo tanto evaluar las poblaciones en estadios iniciales de desarrollo, comparando su diferencia morfológica ante las distintas concentraciones salinas, es fundamental. Además, Khan *et al.* (2003) indican que este tipo de evaluación es un método rápido, adecuado y económico para realizar una selección preliminar de un gran número de entradas respecto

a su comportamiento al estrés salino, a través de las variables longitud de raíces, longitud de la parte aérea, peso fresco y peso seco de ambas partes.

La capacidad de las semillas para permanecer viables después de la exposición a la salinidad y germinar cuando se reduce el estrés salino es un mecanismo importante que permite la persistencia de las plántulas bajo un ambiente estresante e impredecible. Cardamone *et al*. (2018), evaluando cultivares de *Panicum coloratum var. Makarikariense* en estado de plántula encontraron plantas tolerantes que producen una mayor cantidad de biomasa bajo condiciones de salinidad y un menor porcentaje de disminución del crecimiento comparada con otras sometidas a las mismas condiciones. Por lo tanto, estos cultivares que presentaron variabilidad tanto morfológica como genética a la tolerancia a la salinidad pueden ser utilizados como material parental para programas de selección.

Laynez-Garsaball *et al.* (2007), evaluaron dos cultivares de maíz en diferentes concentraciones salinas de NaCl (0 g/L, 4,24 g/L y 7,06 g/L). El peso seco aéreo fue la variable más afectada por la salinidad, el cual disminuyó al aumentar la concentración salina, mientras que el peso seco radicular sólo varió con respecto al testigo en el tratamiento de menor potencial osmótico. La altura de plántula evidenció diferencias significativas entre los dos cultivares. Los autores concluyeron que las condiciones salinas afectaron el crecimiento de las plántulas debido a que el exceso de sales limitó la elasticidad de la pared celular provocando la disminución del alargamiento celular. El desarrollo radicular también se vio afectado generando una disminución en la absorción de agua, toxicidad de sodio y cloro en las células del ápice, provocando consecuentemente una reducción en la fotosíntesis.

La variabilidad genética es indispensable cuando se quiere tener éxito en programas de mejoramiento, ya que el progreso de la selección depende de la cantidad de la variabilidad genética presente en la población (Bernardo, 2002).

En Argentina, actualmente los maíces utilizados en la agricultura poseen base genética muy estrecha y son híbridos genéticamente uniformes. Sin embargo, existen más de 40 variedades o razas locales de maíz definidas por diferentes tipos de textura, formas, color, etc. Estas razas locales además de presentar una gran diversidad genética, incluyen los complejos ecológicos en los cuáles se desenvuelven y el factor humano que ha contribuido a su permanente mantenimiento, conservación y desarrollo (Cámara Fernández, 2013).

Estas poblaciones locales de maíz que incluyen materiales recolectados en regiones edafo-climáticas consideradas marginales, son conservadas *ex situ* en el Banco Activo de maíz de la EEA de INTA Pergamino (BAP) y pueden considerarse potenciales fuentes de germoplasma tolerantes a salinidad. A lo largo de los años, se han realizado diferentes evaluaciones de las poblaciones locales con objetivos específicos, pero nunca para efectos de estrés abióticos como la salinidad.

Para que la variabilidad detectada en las poblaciones evaluadas pueda ser utilizada en los programas de mejoramiento, debe ser de origen genético. La estrategia más utilizada para determinar el efecto genético de la variabilidad es el Análisis de la Variancia (ANOVA) debido a que la variación de un carácter se mide y se expresa a través de la ella (Abbott y Pistorale, 2010). Este análisis debe cumplir los supuestos de independencia de las observaciones, distribución normal de los residuales y la varianza del error debe ser constante entre las observaciones. Insaurralde *et al.* (2014), utilizaron esta metodología para evaluar respuesta a la salinidad en *Melilotus albus* encontrando variabilidad en la tolerancia a la salinidad y en la respuesta a concentraciones crecientes de sal en el medio de cultivo en hidroponía.

Cuando los supuestos del ANOVA no se cumplen, puede recurrirse al uso de modelos lineales generales y mixtos que se aplican particularmente a investigaciones que implican factores que pueden ser controlados por los investigadores (efectos fijos); así como factores con niveles que están fuera del control del investigador (efectos aleatorios) (Balzarini *et al.*, 2004). Biasutti y Balzarini (2012) emplearon estos modelos para identificar los mejores cultivares de maíz mediante el análisis de datos fenotípicos unidos a datos de relaciones de parentesco.

El ANOVA se aplica para cada una de las variables evaluadas en forma individual, pero cuando se realizan evaluaciones sobre un grupo de variables a cada población, resulta de interés ver el comportamiento de todas ellas en forma conjunta. Para estos casos se debe recurrir al uso de técnicas de análisis multivariado. Dentro de las técnicas existentes, el Análisis de Componentes Principales (ACP) es el más utilizado en la evaluación de Recursos Genéticos.

El ACP se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de nuevas variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. Cada componente principal contiene información en

diferentes proporciones de todas las variables originales, condensando la información obtenida, en unas pocas componentes que expliquen la mayor variabilidad posible (Franco e Hidalgo, 2003). Este análisis nos permite ver el agrupamiento entre las poblaciones en base a sus semejanzas, así como también determinar que variables tienen mayor peso en su diferenciación.

Utilizando ACP se distinguieron familias de cebadilla criolla (*Bromus catharticus*) con comportamiento diferencial en cuanto a la tolerancia a la salinidad (Aulicino *et al.,* 2014). En este estudio, las plantas que no fueron sometidas a estrés salino alcanzaron mayor peso seco y longitud de tallos y raíces, con respecto de aquellas cuyo tratamiento fue con 100 mM de sal, explicando las dos primeras componentes el 60% de la variabilidad evaluada. Por otro lado, Defacio (2009) utilizó esta metodología para evaluar 145 poblaciones locales de maíz mediante descriptores morfológicos, fenológicos y agronómicos. Este estudio permitió agrupar a las poblaciones en base a sus semejanzas y diferencias, determinando las características morfo-agronómicas de cada grupo.

La identificación de poblaciones con buen comportamiento a salinidad, permitiría incluir al área de producción zonas marginales, aumentando la producción del cultivo de maíz a nivel nacional y mundial. Este germoplasma podría ser utilizado en forma directa por los agricultores, o en forma indirecta ingresando los genes de interés al material elite, en los programas de mejoramiento genético.

3. HIPÓTESIS

Las poblaciones locales de maíz manifiestan cambios morfológicos significativos, en etapas iniciales de desarrollo frente a diferentes concentraciones salinas.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el crecimiento aéreo y radicular de poblaciones locales de maíz, conservadas en el banco de germoplasma de Pergamino, en etapas iniciales de desarrollo frente a diferentes concentraciones salinas.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Poner a punto la metodología de evaluación: medio de cultivo, concentraciones salinas y tiempo de duración de los ensayos.
- Determinar la variabilidad de poblaciones locales de maíz mediante variables morfológicas en etapas iniciales del desarrollo evaluadas en diferentes concentraciones salinas.
- Seleccionar poblaciones con características morfológicas diferenciales para tolerancia a salinidad.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los ensayos se llevaron a cabo en el laboratorio de semillas de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). En primera instancia se realizó la puesta a punto de la metodología de trabajo y posteriormente se procedió a la evaluación de las poblaciones locales de maíz.

5.1. Puesta a punto de la metodología

La puesta a punto de la metodología consistió en la determinación del medio de cultivo más apropiado, el tiempo de duración de los ensayos y la selección de las concentraciones salinas. Para ello se utilizó un híbrido comercial, que presenta cierto grado de sensibilidad al efecto salino, lo que permitió discriminar entre los tratamientos.

Además, al utilizar un material genéticamente uniforme se puede asegurar que la variabilidad observada se debe sólo al efecto de los tratamientos.

Para la determinación del medio de cultivo más apropiado se probaron 3 sustratos: sobre papel (Fig. 1), entre papeles (Fig. 2) y en arena (Fig. 3) según las normas de la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas (ISTA, 2017). Se sembraron 25 semillas, previamente desinfectadas en todos los casos.

Figura 1. Ensayo sobre papel. **Figura 2.** Ensayo entre papeles.

Figura 3. Ensayo utilizando como sustrato arena.

Una vez definido el medio de cultivo, se llevaron a cabo una serie de ensayos donde se evaluó la cantidad de plántulas vivas en soluciones salinas con concentraciones de 200, 300 y 400 mM de NaCl, registrando los datos a los 7, 14, 21 y 28 días después de la siembra con el fin de detectar el momento óptimo de evaluación.

En este ensayo se comprobó que el crecimiento de las plántulas a los 21 días después de la siembra se veía afectado por necrosis de las plántulas más desarrolladas. Por otro lado, se determinó que entre 300 y 400mM de NaCl se veía afectada la emergencia de las plántulas. Por dicho motivo se realizó una nueva evaluación en la cual se registró el peso seco de raíz (PSR) y de la parte aérea (PSA) a los 21 días después de la siembra, utilizando los tratamientos de 300, 325, 350 y 375mM de NaCl. El objetivo de este procedimiento fue buscar un punto de corte determinando las máximas concentraciones salinas, por sobre las cuales no se registraba crecimiento de las plántulas.

Todos los ensayos se realizaron en cámara de germinación con temperaturas alternas 20-30°C con un ciclo de 16 hs de oscuridad y 8 hs de luz según lo detallado en el

capítulo 5 de las normas para la especie en estudio (ISTA, 2017).

Una vez ajustada la metodología de trabajo, se procedió a la evaluación de las poblaciones locales de maíz.

5.2. Evaluación de poblaciones locales de Maíz

El material vegetal evaluado consistió en 44 poblaciones locales de maíz (Anexo I) conservadas en el Banco Activo de Germoplasma INTA – EEA Pergamino (BAP). Las poblaciones se seleccionaron en base a los datos de pasaporte de las mismas, lo que permitió trabajar con aquellas poblaciones colectadas en zonas edafo-climáticas del país donde es posible que se den condiciones de estrés salino.

El experimento se llevó a cabo en cámara de germinación con temperatura y luz alterna, 20 grados centígrados (°C) durante 16 horas (h) de oscuridad y 30 °C durante 8 h de luz. Dado el espacio limitado de la cámara para evaluar simultáneamente las 44 poblaciones, se realizaron 11 ensayos sucesivos conformados por cuatro poblaciones, tres niveles de sal y cuatro repeticiones. En cada uno de los ensayos se incluyó un híbrido comercial como testigo. El mismo fue utilizado para determinar cualquier problema con los tratamientos y/o con las condiciones ambientales durante el período en que transcurría cada ensayo. Dado el espacio limitado de la cámara para evaluar simultáneamente las 44 poblaciones, se realizaron 11 ensayos sucesivos conformados por cuatro poblaciones, tres niveles de sal y cuatro repeticiones. Dentro de cada ensayo, los tratamientos se dispusieron en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial. Los genotipos se consideraron como factor uno y los tratamientos salinos como factor dos, cada Unidad Experimental constó de 25 semillas.

Los tratamientos consistieron en una solución sin agregado de sal denominado tratamiento control (T0), una solución salina de 175 mM de NaCl correspondiente al tratamiento uno (T1) (Fig. 4) y una concentración salina de 350 mM de NaCl o tratamiento dos (T2) (Fig 5).

Figura 4. Conductividad eléctrica: 17,5 dSm^{-1} del tratamiento (T1) con una concentración salina de 175 mM de cloruro de sodio.

Figura 5. Conductividad eléctrica: 35,0 dSm^{-1} del tratamiento (T2) con una concentración salina de 350 mM de cloruro de sodio.

se re ena
punto n la
capacidad de las bandejas se colocaron en cada una 300 g de arena esterilizada y humedecida con la solución salina o tratamiento correspondiente. Luego se realizó la siembra con 25 semillas por bandeja y las mismas se cubrieron con 200 g de arena humedecida con la solución adecuada.

Todas las semillas fueron previamente desinfectadas con terápico para semillas marca comercial Tiram al 36% a razón de 100 ml cada 100 kg de semillas (Fig. 6).

Figura 6. Semillas previamente desinfectadas con terápico para semillas marca comercial Tiram.

Una vez finalizado el procedimiento de siembra, las bandejas se cubrieron con bolsas plásticas cerradas y se colocaron en la cámara de germinación en forma aleatorizada. Esto permitió mantener la humedad durante los 21 días que permanecieron en la cámara de germinación (Fig. 7 y 8)

Figura 7. Bandejas colocadas en bolsas plásticas cerradas.

Figura 8. Bandejas en cámara de germinación.

Transcurridos 21 días desde la siembra, las bandejas fueron retiradas de la cámara y con la utilización de coladores metálicos, en bateas de lavado, se procedió a realizar la limpieza de las plántulas para quitar los restos de arena de las raíces.

Con el material vegetal completamente limpio, sin restos de sustrato, y correctamente rotulado, se midieron las variables longitud y peso seco de la parte aérea y radicular como se detalla a continuación:

- La parte aérea y radicular fueron separadas utilizando un bisturí. La longitud de cada parte de la plántula fue medida en centímetros (cm) con una regla (Fig. 9).

- El peso seco total de raíces y parte aérea se determinó colocando las distintas partes en sobres de papel madera y llevándolas a estufa durante 48h a 66°C. Transcurrido ese periodo de tiempo las muestras se pesaron en una balanza de precisión marca Mettler modelo PM200 sensibilidad 0,001 g.

Figura 9. Variables longitud radical y longitud de la parte aérea (cm)

5.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo, el cual permitió obtener información general sobre la variabilidad del germoplasma evaluado. Se calculó para cada variable la media, el desvió estándar, el coeficiente de variación, los valores máximos y mínimos particionado por tratamiento de salinidad.

El análisis de varianza se llevó a cabo mediante el empleo de un modelo lineal general mixto basado en estimaciones de Máxima Verosimilitud Restringida (REML; Patterson y Thompson, 1971) (Ec. 1):

$$Y_{ijkn} = \mu + \alpha_i + \delta_j + (\alpha\delta)_{ij} + \rho_n + \beta_k(\rho)_n + \varepsilon_{ijk} \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Y_{ijkn}= Es la observación correspondiente a la *i*-ésima población en el *j*-ésimo tratamiento de salinidad en la *k*-ésima repetición del *n*-ésimo ensayo.

μ= Es la media general.

α_i= Es el efecto aleatorio de la *i*-ésima población local de maíz, i = 1….44.

δ_j= Es el efecto fijo del *j*-ésimo tratamiento de salinidad, j = 1…..3.

$(\alpha\delta)_{ij}$= Es el efecto aleatorio de la interacción entre la *i*-ésima población local de maíz y el *j*-ésimo tratamiento de salinidad.

ρ_n= Es el efecto aleatorio del *n*-ésimo ensayo, n = 1……11.

$\beta_k(\rho)_n$=Es el efecto aleatorio de la *k*-ésima repetición dentro del *n*-ésimo ensayo, k = 1….4 .

ε_{ijk}= Es el error experimental.

Una vez ajustado el modelo se comprobó que las variables presentaron una distribución normal, se contempló heterocedasticidad para los términos aleatorios $\alpha_i + (\alpha\delta)_{ij}$ y se consideró el modelado de la matriz de covarianza y varianza del error, contemplando la correlación entre los datos provenientes de un mismo ensayo y la posibilidad tanto de homogeneidad como de heterogeneidad de variancias entre ensayos. A partir del criterio de Akaike (AIC; Verbeke y Molenberghs, 2000) se eligió el modelo que mejor representara la naturaleza de los datos (Anexo II).

A partir del análisis de varianza (ANOVA) se estimaron los componentes de varianza y a los fines prácticos de esta tesis se representó gráficamente la varianza genética entre poblaciones particionada por cada tratamiento de salinidad.

5.4. Índice de tolerancia

Se identificó el nivel de sal que permitió expresar la mayor variabilidad entre las poblaciones y para ese nivel se estimó la tolerancia a la salinidad mediante el índice de tolerancia (IT):

$IT= PS_X/PS_{T0}$

Donde PS_X es el peso seco de la población en el tratamiento X, considerando el peso seco (PS) como la suma de peso seco raíz + parte aérea (PSR+PSA) y PS_{T0} es el peso seco de la misma población en el tratamiento control. Valores iguales o mayores a 1 indicarían tolerancia al nivel de sal del tratamiento X.

Para facilitar la selección se realizó un gráfico con los valores de IT y PS_X, considerando como criterio de selección en IT aquellas iguales o superiores a 1 y en PS_X al 10% superior.

5.5. Análisis de componentes principales (ACP)

Para comparar las poblaciones en base a su similitud con todas las variables evaluadas en forma conjunta, se realizó el Análisis multivariado de Componentes Principales (ACP).

El ACP se calculó partiendo de la matriz de correlaciones de los datos originales estandarizados. Para facilitar la interpretación, los resultados del análisis se representaron gráficamente en el plano utilizando las dos primeras componentes principales. Este gráfico permitió diferenciar a las poblaciones en base a sus semejanzas así como determinar las variables que más influyen en su agrupamiento.

Se determinó el tratamiento salino que permitió expresar la mayor variabilidad y con dichos datos se realizó un nuevo ACP para agrupar las poblaciones y determinar aquellas con mayor crecimiento en condiciones de estrés salino.Para todos los análisis se utilizó el software estadístico INFOSTAT con enlace en R (Di Rienzo *et al*., 2015).

6. RESULTADOS

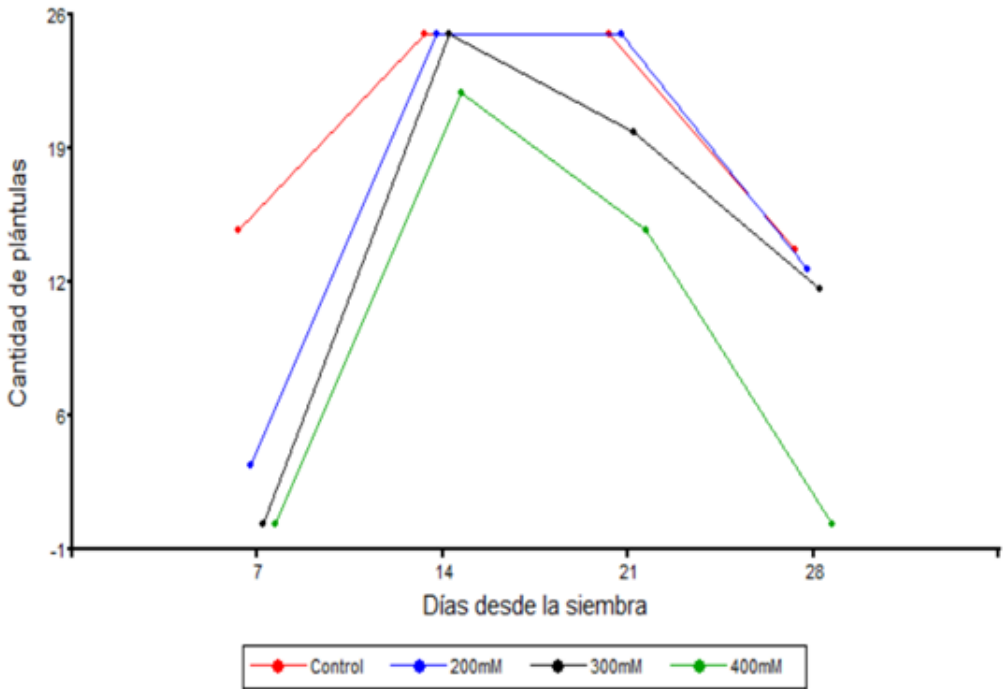
6.1. Puesta a punto de la metodología

En esta etapa se definieron el sustrato y la duración de los ensayos, así como las concentraciones salinas a utilizar.

Respecto al sustrato se verificó que el más adecuado fue la arena ya que permitió un desarrollo morfológico óptimo de las raíces. Además, esta podía ser humedecida con la solución salina de cada tratamiento sin mayores dificultades y permitió mantener la humedad durante todo el tratamiento.

Para determinar la duración del ensayo, se evaluó la cantidad de plántulas vivas en las diferentes concentraciones salinas (0, 200, 300 y 400 mM de NaCl) a los 7, 14, 21 y 28 días desde la siembra (Gráfico 1).

Gráfico 1: Cantidad de plántulas vivas a los 7, 14, 21 y 28 días desde la siembra sometidas a tres concentraciones salinas (200, 300, 400 mM de NaCl) y un tratamiento control, sin agregado de sal.

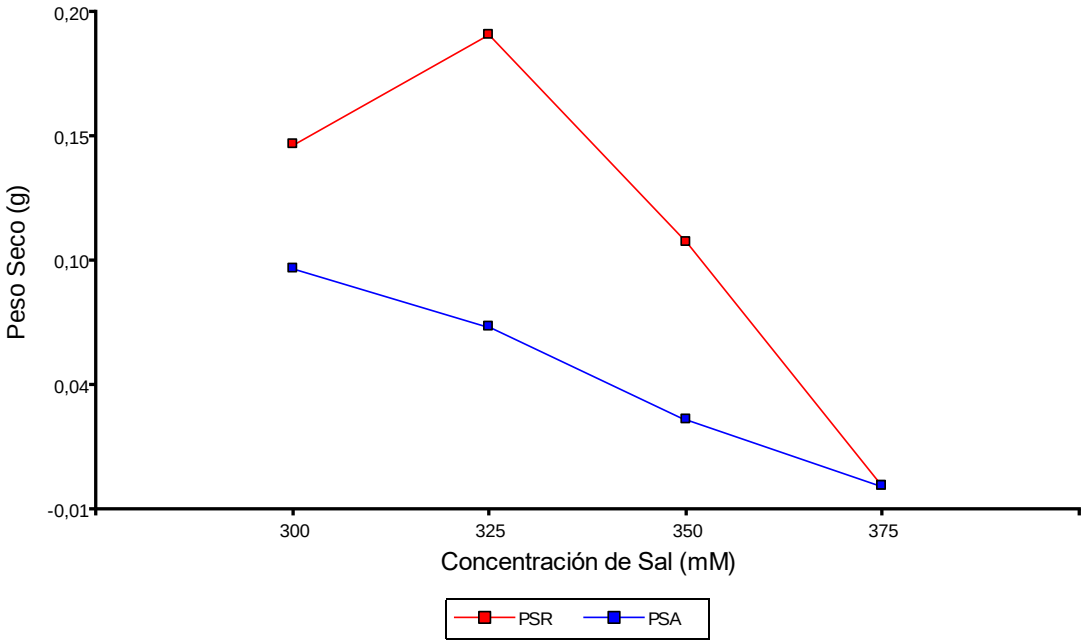


En el gráfico se observa que a los 28 días disminuye drásticamente el número de plántulas vivas. A su vez, a partir de los 21 días se observó que las plantas comenzaban a

necrosarse y no se podía identificar el causal de esta necrosis, ya que se confundía el efecto de la limitante de espacio con el efecto de los tratamientos.

Por otro lado, este estudio preliminar permitió observar a partir de que concentración de sal se afectaba el crecimiento y se comprobó que ocurría entre 300 mM y 400 mM de NaCl. Partiendo de esta información, se probaron concentraciones salinas entre esos dos valores (300, 325, 350 y 375 mM de NaCl) para buscar un punto de corte de los tratamientos (Gráfico 2).

Gráfico 2: Biomasa producida a los 21 días después de la siembra en concentraciones salinas de 300, 325, 350 y 375 mM de NaCl.



Los pesos secos a partir de 375 mM eran nulos, es decir, no se observó crecimiento, evaluando a los 21 días después de siembra y en sustrato arena. Por lo tanto, se decidió contemplar 350 mM como máxima concentración en la cual se podía desarrollar una plántula de maíz bajo las condiciones de estudio y un valor intermedio (175 mM) para observar el comportamiento de las mismas y detectar poblaciones tolerantes a salinidad.

6.2. Análisis estadísticos

6.2.1. Análisis descriptivo

En la tabla 1 se presentan las medidas descriptivas de las 44 poblaciones estudiadas: media, coeficiente de variación, desvío estándar, valor máximo y valor mínimo, para los caracteres: largo de raíz, largo de la parte aérea, peso seco aéreo y peso seco radical.

Tabla 1. Medidas de resumen de los tratamientos y todas las variables: media, desvío estándar (D.E), coeficiente de variación (CV), valor mínimo (Min) y valor máximo (Max).

Tratamiento	Variable	Media	D.E	CV	Min	Max
0	LR	27,64	4,82	17,42	16,06	43,45
0	LA	25,91	4,07	15,70	15,86	35,91
0	PSR	2,09	0,74	35,45	0,65	4,64
0	PSA	1,42	0,37	25,68	0,51	2,51
1	LR	12,63	3,11	24,64	2,24	21,34
1	LA	10,44	3,47	33,24	1,68	17,60
1	PSR	1,78	0,86	48,18	0,32	5,63
1	PSA	0,85	0,31	36,55	0,10	2,01
2	LR	1,11	0,69	62,34	0,00	3,27
2	LA	0,46	0,53	116,73	0,00	2,88
2	PSR	0,18	0,19	104,63	0,00	0,89
2	PSA	0,10	0,11	115,99	0,00	0,49

LR: Largo radical (cm); LA: Largo de la parte aérea (cm); PSR: Peso seco radical (g); PSA: Peso seco aéreo (g).

En relación a la variabilidad dentro de poblaciones se destacan los caracteres PSR y PSA que presentaron CV más elevados tanto en el tratamiento control como en el tratamiento 1, mientras que en el tratamiento 2 las variables LA, PSA y PSR fueron las de mayor variación.

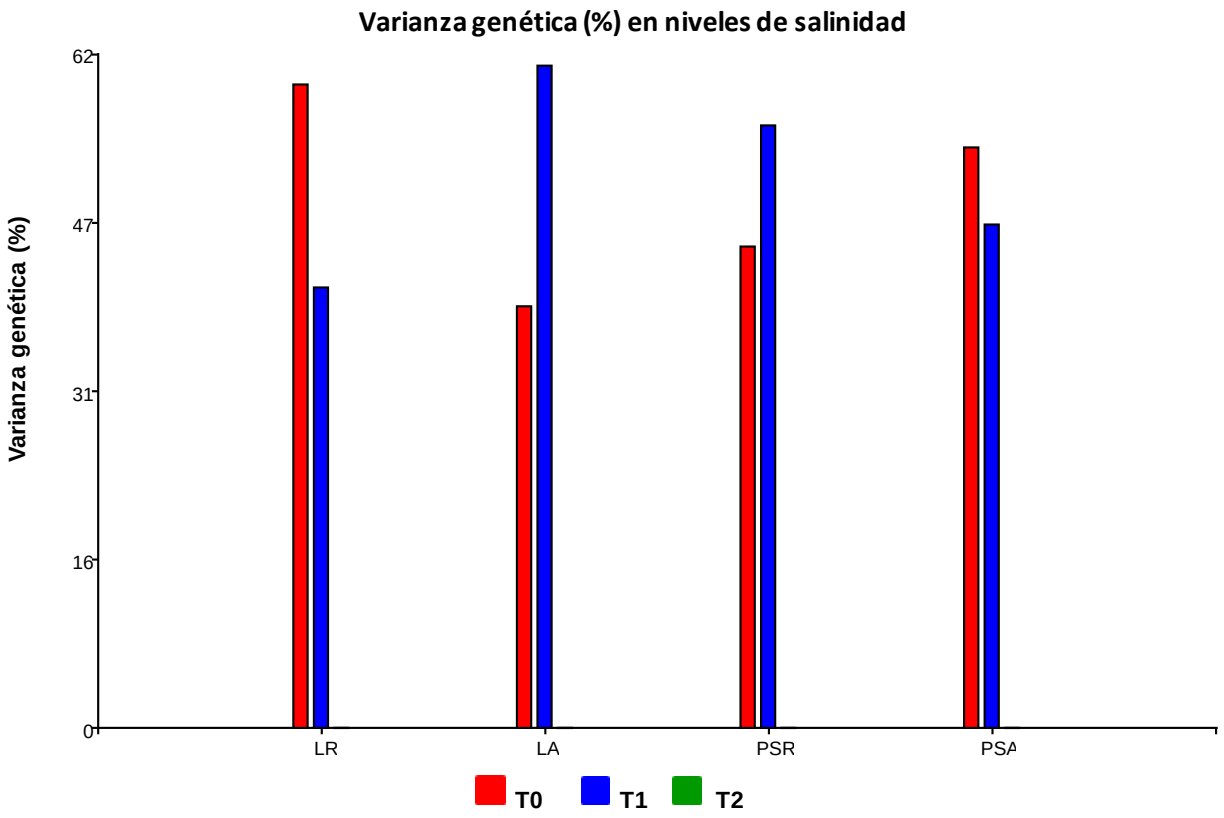
6.2.2. Modelo estadístico

En el presente trabajo, para cada variable evaluada, se utilizó la estructura de covarianzas y variancias más apropiada (Anexo II).

6.3. Varianza genética entre poblaciones para los distintos tratamientos de sal

Para todas las variables en el tratamiento T2, la variabilidad genética entre las poblaciones fue nula. Para las variables LA y PSR el porcentaje de variabilidad genética fue mayor en T1. En PSA fue similar en los tratamientos T0 y T1, mientras que para LR se expresó mayor porcentaje de variabilidad en T0 (Gráfico 3).

Gráfico 3. Varianza genética entre poblaciones (%) para los diferentes tratamientos de sal y las 4 variables estudiadas

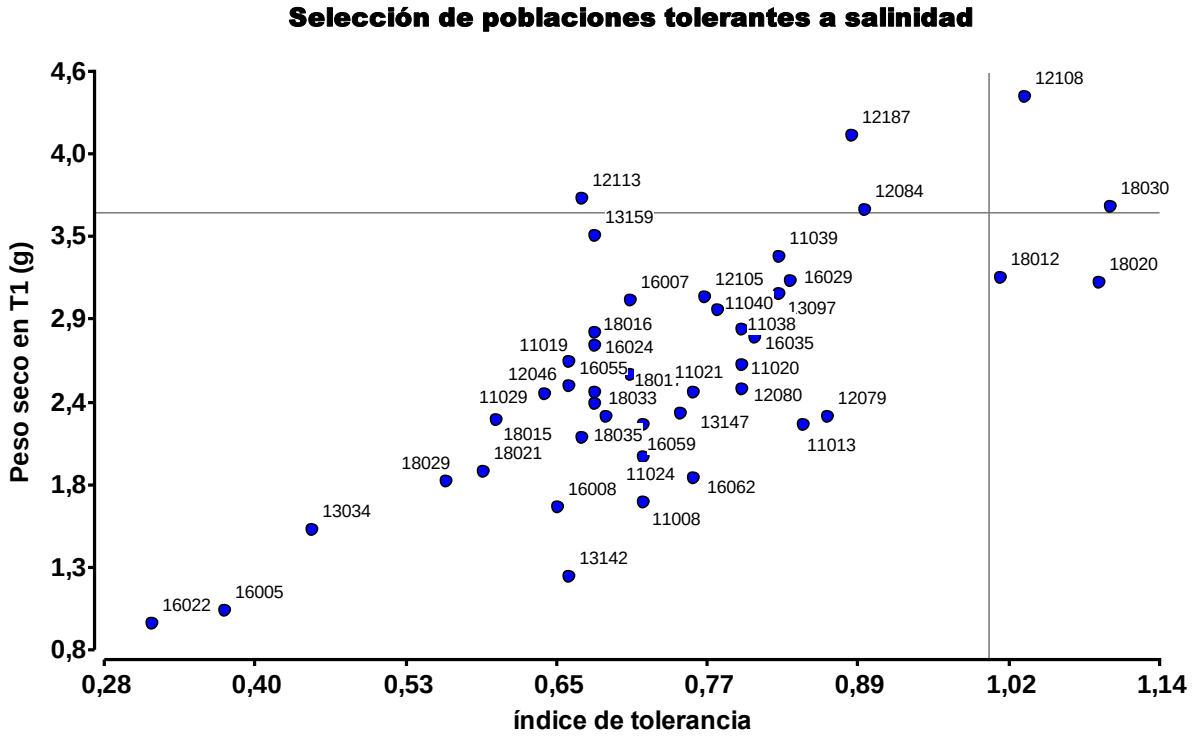


LR: Largo radical (cm); LA: Largo de la parte aérea (cm); PSR: Peso seco radical (g); PSA: Peso seco aéreo (g)

6.4. Índice de tolerancia

En el gráfico 4 se muestra la relación entre el IT y la variable PS en el T1. Se puede observar que las poblaciones más promisorias (tolerantes a salinidad) son ARZM12018 y ARZM18030 ya que son las únicas que se ubican en el cuadrante superior derecho, con IT mayor a 1 y corresponde al 10% de las poblaciones que obtuvieron el mayor peso seco.

Gráfico 4. Identificación de poblaciones promisorias que muestran tolerancia según el índice de tolerancia (IT) y el peso seco obtenido en el tratamiento 1.



Referencias: Para una mejor comprensión de los gráficos los nombres de las poblaciones se reemplazaron por los últimos números de pasaporte que identifican a las mismas.

6.5. Análisis de componentes principales (ACP)

Para ver la similitud entre las poblaciones se realizó el ACP. Las dos primeras componentes principales representan el 97% de la variabilidad total explicada con las variables evaluadas para las poblaciones estudiadas (tabla 2).

La primer CP explica el 90% de la variabilidad y todas las variables evaluadas fueron importantes en la misma (tabla 3).

La segunda CP explica el 7% de la variabilidad y está constituida en mayor proporción por las variables peso seco radical y peso seco aéreo (tabla 3).

Tabla 2. Autovalores de la matriz de correlación, proporción que explica cada autovalor y proporción acumulada.

Lambda	Valor	Proporción	Prop. Acum
1	3,59	0,90	0,90
2	0,29	0,07	0,97
3	0,10	0,02	0,99
4	0,02	0,01	1,00

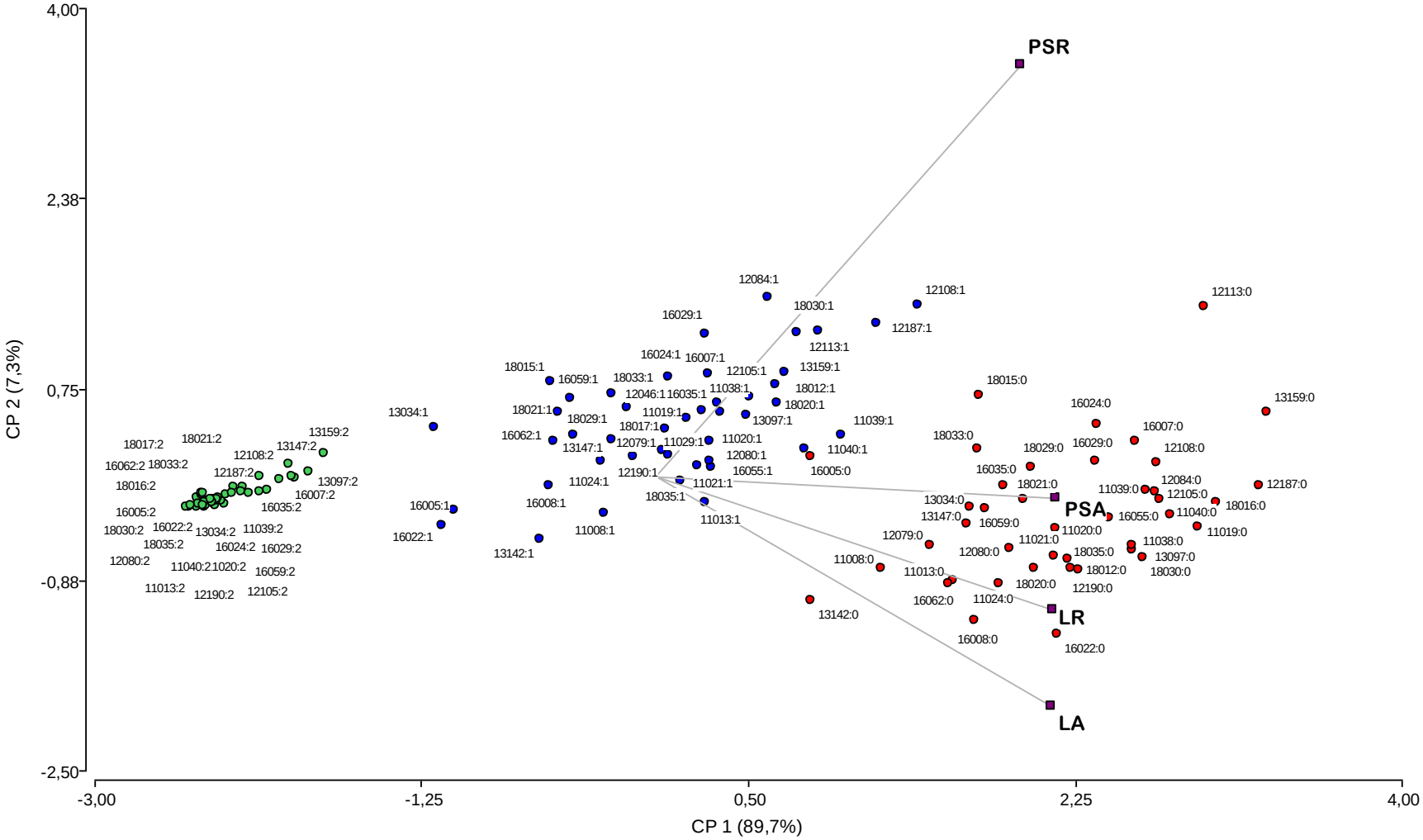
Tabla 3. Autovectores correspondientes a la Componente principal 1(CP1) y a la Componente principal 2(CP2) para las 4 variables analizadas

Variables	CP1	CP2
LR	0,51	-0,27
LA	0,51	-0,47
PSR	0,47	0,84
PSA	0,51	-0,04

LR: Largo radical (cm); LA: Largo de la parte aérea (cm); PSR: Peso seco radical (g); PSA: Peso seco aéreo (g).

Para una mejor interpretación de los resultados se presentaron en el plano los resultados obtenidos (Gráfico 5).

Gráfico 5. Análisis de Componentes Principales



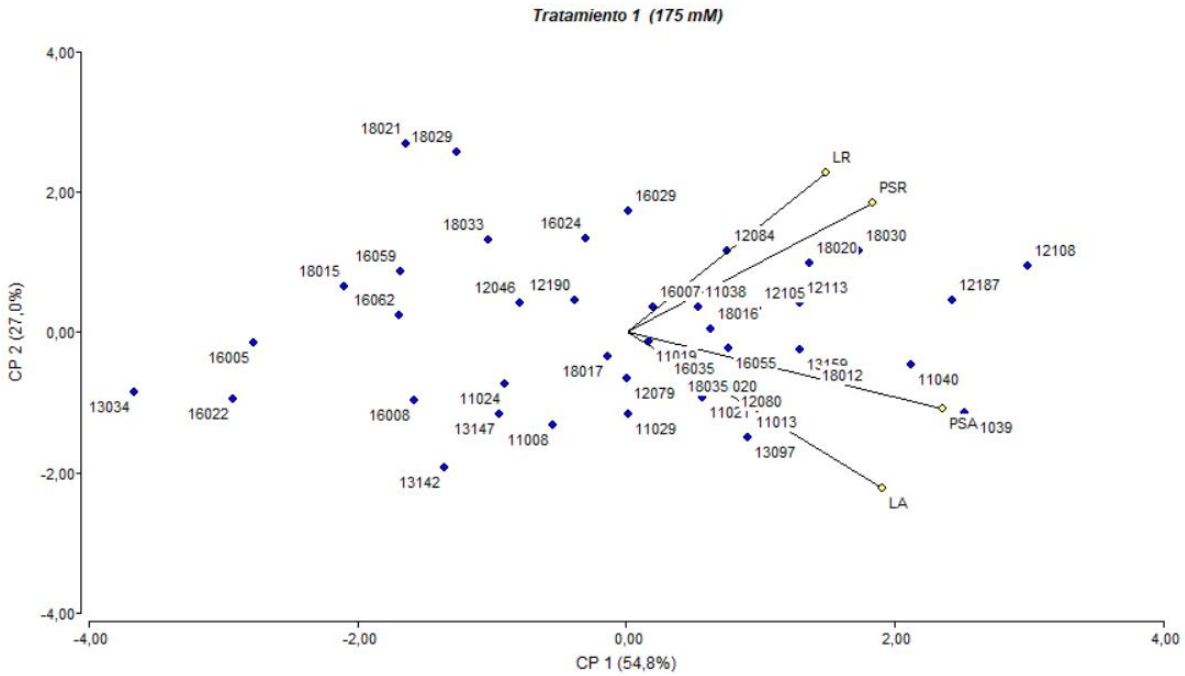
Referencias: T0 (0 mM), T1 (175 mM), T2 (350 mM). LR: Largo radical (cm); LA: Largo de la parte aérea (cm); PSR: Peso seco radical (g); PSA: Peso seco aéreo (g). Para una mejor comprensión de los gráficos los nombres de las poblaciones se reemplazaron por los últimos números de pasaporte que identifican a las mismas.

En el gráfico se observa cómo se agruparon las poblaciones respeto a su comportamiento ante los diferentes tratamientos salinos, evidenciando un grupo compacto para el T2 hacia la izquierda. Este grupo fue el que menos desarrollo a nivel morfológico evidenció.

En el caso del T0 todas las poblaciones están agrupadas a la derecha donde se pudieron expresar con todo su potencial genético ya que es un tratamiento control, sin efecto del agregado de sal.

El T1 arrojó un grupo intermedio disperso en el cual se pudo evidenciar la variabilidad genética expresada por los genotipos ya que fueron expuestos al tratamiento 175 mM de NaCl el cual contenía el nivel de salinidad intermedia. Este tratamiento permitió notar diferencias en la expresión de la variabilidad genética (Gráfico 6).

Gráfico 6. Análisis de Componentes Principales del tratamiento 1 (175 mM)



Referencias: LR: Largo radical (cm); LA: Largo de la parte aérea (cm); PSR: Peso seco radical (g); PSA: Peso seco aéreo (g). Para una mejor comprensión de los gráficos los nombres de las poblaciones se reemplazaron por los últimos números de pasaporte que identifican a las mismas

Las dos primeras componentes principales representan el 81,8 % de la variabilidad total explicada con las variables evaluadas para las poblaciones estudiadas. La primer CP explica el 54,8% de la variabilidad y todas las variables evaluadas fueron importantes en la misma. La segunda CP explica el 27% de la variabilidad y está constituida en mayor proporción por las variables peso seco radical y peso seco aéreo.

Se observó que las poblaciones 12108 y 12187 son las de mejor comportamiento dentro del tratamiento T1 (175 mM) ya que son las que más se diferencian del resto. Estas poblaciones presentaron mayor peso seco radical y peso seco aéreo.

7. DISCUSION

7.1. Puesta a punto de la metodología

En este trabajo de investigación se procedió a poner a punto la técnica para llevar a cabo los ensayos, ya que lo encontrado en la bibliografía referido a la metodología es muy variado.

El primer paso fue determinar el medio de cultivo más apropiado para evaluar las poblaciones locales de maíz. El sustrato seleccionado fue arena ya que permitió un desarrollo morfológico óptimo de las raíces, podía ser humedecida con la solución salina de cada tratamiento sin mayores dificultades y permitió mantener la humedad durante todo el tratamiento. Al utilizar el sustrato entre papeles, las semillas y posteriormente la plántula, quedaban en total oscuridad durante mucho tiempo, lo que provocaba clorosis y deterioro de la parte aérea. La siembra sobre papeles no permitía un buen desarrollo morfológico de las raíces y con respecto al agregado de la solución salina de cada tratamiento no era eficiente, ya que solo la parte de las semillas en contacto con el papel quedaban expuestas a este ambiente salino.

En segundo lugar, se ajustó la duración de los ensayos ya que la salinidad del suelo reduce la germinación de las semillas y afecta la supervivencia de las plántulas de maíz cuanto más marcados son los incrementos en salinidad (Laynez-Garsaball *et al.,* 2007).

El periodo de tiempo seleccionado fue de 21 días ya que se obtuvo el mayor número de plántulas vivas, pasados los 21 días, las plantas comenzaban a necrosarse por falta de capacidad para su desarrollo en las bandejas que se utilizaron, impidiendo observar el efecto entre los tratamientos.

Definido el sustrato y la duración de los ensayos, se procedió a determinar las concentraciones salinas a utilizar. Primero se obtuvo el punto de quiebre en el cual más allá de este no se evidencia desarrollo. A partir de los resultados obtenidos (Gráfico 2) fue posible determinar que los pesos secos a partir de 375 mM eran 0, es decir, no se observa crecimiento, evaluando a los 21 días después de siembra y en sustrato arena. Esto permitió seleccionar el tratamiento con mayor concentración salina (350 mM de NaCl) como máxima concentración en la cual se podía desarrollar una plántula de maíz bajo las condiciones de estudio. Por otro lado, se utilizó un tratamiento control (0 mM de NaCl) donde los genotipos expresaron su desarrollo en condiciones normales, es decir sin restricciones. Por último, se

utilizó un tratamiento con la concentración de 175 mM de NaCl de sal, el cual nos permitió trabajar con una concentración salina intermedia.

Otros autores utilizaron otros sustratos, concentraciones salinas y duración de los ensayos para evaluar tolerancia a la salinidad en maíz. Rodríguez *et al*. (2008), evaluaron dos variedades de maíz, las que fueron germinadas en placas Petri con soluciones salinas de 50, 100, 150 y 200 mM de cloruro de sodio, así como un control con agua destilada. Luego de 7 días de tratamiento evaluaron la longitud del coleoptilo y de la radícula, el número de raíces emitidas y la masa fresca y seca total. Musito-Ramírez *et al.* (2004), en un estudio preliminar de genotipos de maíz tolerantes a salinidad en laboratorio utilizaron cajas de Petri la cual contenía papel filtro con diferentes niveles de salinidad (0, 3, 6, 9 y 12 dS/m^{-1}). Las cajas se colocaron en un cuarto oscuro con temperatura y humedad uniforme y después de 20 días se midieron las variables longitud de radícula y longitud de plántula. Para determinar la respuesta de siete variedades de maíz al estrés salino, Zepeda Jazo *et al.* (2017), evaluaron las mismas en cajas de Petri con tres concentraciones (0, 40 y 80 mM) de NaCl en 5 ml de agua destilada a cada caja. Colocaron las cajas en oscuridad en la cámara bioclimática a 24 ± 1°C por tres días, para así determinar el porcentaje de germinación, longitud del vástago, peso fresco del vástago, peso seco del vástago, longitud de la raíz, peso fresco de la raíz y peso seco de la raíz.

Una vez que se definió, para el ambiente a utilizar, el sustrato, el periodo de duración de los ensayos y los tratamientos salinos, se realizó la evaluación de las poblaciones.

7.2. Variabilidad genética entre poblaciones para los distintos tratamientos de sal

La variabilidad genética en el T2 (350 mM de NaCl) fue 0 para todas las variables. Los genotipos tuvieron un mínimo desarrollo al estar expuestos al tratamiento con mayor concentración salina pudiendo haber sido afectados por la toxicidad de las sales.

La mayor variabilidad genética se observó para la variable largo de raíz en el T0. Al estar expuestos al tratamiento control, los genotipos no poseen ninguna restricción a nivel radical, lo cual les permitió crecer de forma normal expresando toda su variabilidad genética.

Todas las variables estudiadas expresaron variabilidad en T1 (175 mM de NaCl), destacando la mayor variabilidad genética para la variable longitud de la parte aérea y peso seco radical (Gráfico 3). Por lo tanto, este tratamiento fue el nivel de salinidad que permitió distinguir poblaciones con mejor comportamiento al estrés salino.

Rao y McNeilly (1999), evaluaron la tolerancia salina en plántulas de maíz a los 10 días después de la siembra bajo concentraciones de 60 mM y 80 mM de NaCl comparado con un testigo sin agregado de sal (0 mM), donde el grado de variación genética difirió entre las concentraciones no salinas (control) y las dos concentraciones salinas examinadas. Los resultados de este trabajo indican que las poblaciones de maíz mostraron grandes variaciones en la tolerancia al estrés por salinidad. Bajo la condición de solución salina, el hallazgo de una variabilidad significativa entre las poblaciones en las variables longitud de la parte aérea, longitud de raíz, y peso seco de la parte aérea y de la parte radicular, ofrece una oportunidad para la selección de genotipos tolerantes a la salinidad.

Trabajos de investigación realizados en la EEA de INTA Pergamino (Affinito *et al*., 2014) evaluaron la variabilidad genética a nivel morfo-fisiológico y molecular de familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* tolerantes a salinidad, detectando alta variabilidad genética lo cual permitió aplicar selección.

7.3. Índice de tolerancia

Para distinguir las poblaciones con mejor comportamiento ante estrés salino se utilizó el índice de tolerancia definido como cociente entre el peso seco en el tratamiento de salinidad (T1), y el peso seco de la misma población en el tratamiento control (T0). Se utilizó el T1 ya que en este tratamiento se encontró la mayor variabilidad genética expresada en las poblaciones creciendo bajo estrés salino. Al combinar los valores de IT y PST1 y considerando como criterio de selección en IT aquellas iguales o superiores a 1 y en PST1 al 10% superior, se observan las poblaciones con mayor índice de tolerancia y peso seco total respecto a las demás. De esta manera pueden identificarse las poblaciones más promisorias para ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético.

Los resultados obtenidos (Gráfico 4) indican a las poblaciones ARZM12108 y ARZM18030 como las más promisorias en cuanto a tolerancia a estrés salino. Estas dos poblaciones evidenciaron mayor crecimiento en términos de biomasa con respecto al tratamiento control. Se puede suponer que dichas poblaciones poseen caracteres diferenciales en cuanto a tolerancia a estrés salino frente a las demás.

Argentel *et al.* (2010), evaluaron siete líneas de triticale *(X Triticum secale)* por su tolerancia a la salinidad. A partir de los 15 días posteriores a la germinación de las mismas, se evaluaron las variables altura de las plantas, longitud de la raíz, acumulación de materia fresca y seca. Teniendo estos datos se calculó la tolerancia relativa a la salinidad,

detectando que una de las líneas evaluadas presentó los mayores índices de tolerancia relativa para todas las variables. Rao y McNeilly (1999), también encontraron diferencias significativas en los índices de tolerancia bajo tratamientos de sequía y estrés salino, entre distintos cultivares de maíz, provenientes de 17 líneas parentales, de las cuales 6 se usaron como progenitores femeninos y 11 líneas como progenitores masculinos.

7.4. Análisis de componentes principales (ACP)

Los resultados del ACP permiten ver la similitud entre las poblaciones para los diferentes tratamientos salinos utilizando todas las variables en forma conjunta.

La primer CP explica el 90% de la variabilidad total registrada y está integrada por las variables: largo de raíz, largo de la parte aérea, peso seco aéreo y peso seco radicular. La segunda CP explica el 7% de la variabilidad total registrada y está constituida principalmente por las variables peso seco radicular y peso seco aéreo.

En cuanto a las poblaciones puede observarse (Gráfico 5) que el tratamiento T2 las agrupa de manera compacta, presentando los menores valores para todas las variables estudiadas. Sin embargo, la población ARZM13159 se diferencia levemente del resto, evidenciando diferencias con respecto a una relación positiva al peso seco radicular y peso seco aéreo.

En T1 las poblaciones muestran un grupo disperso donde se evidencian diferencias en cuanto a la variabilidad entre las poblaciones. Este tratamiento muestra valores intermedios para todas las variables evaluadas. Podemos observar que las poblaciones ARZM12108 y ARZM12187 se destacan del resto evidenciando el mayor peso seco radicular (Grafico 6).

Por otra parte, en T0 las poblaciones formaron un grupo disperso hacia la derecha evidenciando una alta variabilidad genética propia de cada genotipo para todas las variables. Cabe destacar que la población ARZM16005 se comportó de manera diferente al resto, evidenciando un escaso desarrollo de la parte aérea que se ve reflejado en su peso seco aéreo.

Defacio (2009), evaluó la variabilidad genética, entre las poblaciones locales de maíz originarias de la provincia de Buenos Aires utilizando 20 variables agro-morfológicas. Clasificó dichas poblaciones en base a su similitud utilizando la técnica de ACP. Para explicar la variabilidad encontrada se utilizaron las dos primeras Componentes Principales

(CP) que explicaron un 53,1% de la variabilidad detectada. Esto permitió diferenciar a los genotipos en base a sus similitudes y diferencias.

En los resultados encontrados por Velázquez-Ventura *et al.* (2020), donde se consideraron variables como el porcentaje de germinación, peso seco de raíz y peso seco de vástago, se determinó mediante ACP que los dos primeros componentes principales explican el 37,6% de la variación total acumulada. Los autores consideran al peso seco del sistema radicular y del vástago bajo condiciones normales y de estrés salino en invernadero como atributos con potencial para realizar selección temprana de genotipos de maíz, que fortalezcan las estrategias de mejoramiento genético.

En un estudio en la tolerancia a salinidad en etapas vegetativas tempranas de germoplasma de *Lotus tenuis* realizado por Franco Elisei (2018), se llevó a cabo un ACP evaluando Familias de Medios Hermanos (FHM) con diferentes tratamientos salinos a los 28 días de haber iniciado el tratamiento. Como resultado se observó un agrupamiento de las FMH por tratamiento y que el 95,5% de la variación total fue explicada por las dos primeras componentes generadas. A su vez, todas las variables presentaron una ponderación positiva en la primera componente, lo cual indica una disminución del crecimiento a medida que se incrementó la concentración de NaCl.

Al encontrar tanta variabilidad en las poblaciones de maíz conservadas en el BAP, se considera conveniente ampliar el número de poblaciones a evaluar. Además, las poblaciones selectas por su buen comportamiento en etapas tempranas de desarrollo, deberían evaluarse en invernáculo y/o a campo para obtener más información sobre su comportamiento en el ciclo completo. Esto permitirá determinar si además de lograr una buena implantación, las poblaciones son capaces de concluir su ciclo en esas condiciones, produciendo espigas y granos.

8. CONCLUSIÓN

En este trabajo de investigación se logró poner a punto la técnica para luego evaluar las poblaciones de maíz conservadas en el BAP.

Los resultados permitieron determinar la variabilidad genética entre las poblaciones de maíz evaluadas en cuanto a la tolerancia a salinidad. Además, se evidencia que las variables estudiadas son útiles para detectar la diferencia entre las poblaciones en etapas tempranas de desarrollo.

Por otra parte, en el T1 se encontró la mayor variabilidad genética entre poblaciones para todas las variables. Esto indica que dicho tratamiento es útil para discernir cuales son las poblaciones más tolerantes a la salinidad. Utilizando el índice de tolerancia se detectó a las poblaciones ARZM12108 y ARZM18030 como las más promisorias en cuanto a tolerancia a estrés salino.

Estas poblaciones podrían utilizarse para introgresar sus genes en un programa de mejoramiento genético.

9. BIBLIOGRAFÍA

-ABBOTT L y PISTORALE, S. 2010. Determinación de componentes de la varianza y heredabilidad en cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl.). Agriscientia. 27(2): 115-123.

-ACOSTA R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en Cuba. Cultivos tropicales. 30(2): 113-120.

-AFFINITO M.A., DÍAZ PALEO A y ANDRÉS A. 2014. Caracterización de la variabilidad genética a nivel morfo-fisiológico y molecular de familias de medios hermanos de *Lotus tenuis* tolerantes a salinidad. Revista Argentina de Producción Animal. 34(1): 465-510.

-ARGENTEL L., GONZÁLEZ L.M y PLANA R. 2006. Respuesta de 12 variedades de trigo a la salinidad en las etapas iniciales del crecimiento. Cultivos Tropicales. 27(3): 41-44.

-ARGENTEL L., LÓPEZ R.D., GONZÁLEZ L.M., LOPÉZ R.C., GÓMEZ E y FONSECA I. 2010. Evaluación de la tolerancia a la salinidad en estadios tempranos y finales del desarrollo en triticales (X *Triticum secale*). Cultivos Tropicales. 31 (1): 48-53.

-AULICINO M.B., POVILAUSKAS L.E., COLLADO M.B., ARTUR, M.J y MOLINA M.C. 2014. Mejoramiento de “cebadilla criolla” (*Bromus catharticus* Vahl.) para tolerancia a salinidad. Revista Argentina de Producción Animal. 34(1):465-510.

-BALZARINI M., MACCHIAVELLI R.E y CASANOVES F. 2004. Aplicaciones de Modelos Mixtos en Agricultura y Forestería. 189 p.

-BAZZIGALUPI O., PISTORALE S.M y ANDRÉS A.N. 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado *(Thinopyrum ponticum).* Revista Ciencia e Investigación Agraria. 35(3): 277-285.

-BERNARDO R. 2002. Breeding for Quantitative Traits in Plants. StemMa Press. Woodbury, MN, USA. 369 p.

-BIASUTTI C.A y BALZARINI M. 2012. Estimación del comportamiento de híbridos de maíz mediante modelos mixtos. Agriscientia. 29(2): 59-68.

-CÁMARA FERNANDEZ J. 2013. Un recurso para el futuro: la agrobiodiversidad de los maíces nativos de la Argentina. En Conferencia brindada en la Sesión Publica Extraordinaria de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria del día 11 de julio de 2013.

-CAMPOS FLORES A. 2015. Estrés Osmótico Durante la Germinación, Emergencia y Desarrollo Fenológico del Maíz. Maestría a Tecnología de Granos y Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 58 p.

-CÁRCOVA J., BORRÁS L y OTEGUI M.E. 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad del maíz. En: Producción de granos (autores). Editorial Facultad de Agronomía. Capítulo, 8, 135-157.

-CARDAMONE L., CUATRÍN A., GRUNBERG K and TOMÁS M.A. 2018. Variability for salt tolerance in a collection of *Panicum coloratum* var. *makarikariense* during early growth stages. Tropical Grasslands. 6(3):134–147

-CISNEROS J.M., DEGIOANNI A.J., CANTERO J.J y CANTERO A. 2007. La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria. Editorial EDUCC. Córdoba. 1-20 p.

-COLLADO M.B., ARTURI M.J., AULICINO M.B y MOLINA M.C. 2011. Evaluación de la tolerancia a la salinidad en plántulas de maíz mediante caracteres de hoja y de raíz. Revista de la Facultad de Agronomía La Plata. 110(1): 12-19.

-DEFACIO R.A. 2009. Caracterización y evaluación de la variabilidad genética en poblaciones nativas de maíz (*Zea mays* l.) de la provincia de buenos aires en base a descriptores morfológicos y agronómicos. Tesis Magister en genética vegetal. Pergamino, Argentina. UNR-INTA. 103 p.

-DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZÁLEZ L., TABLADA M y ROBLEDO C.W. 2015. InfoStat versión Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

-EVANS L.T. 1998. Feeding the ten billion. Cambridge Univ Press. 247 p.

-FADA- Fundación Agropecuaria para el Desarrollo de Argentina. 2019. https://www.infocampo.com.ar/los-numeros-del-maiz-desde-los-puestos-de-trabajo-hasta-el-flete/

-FERRER M. 2007. Importancia de las variedades primitivas y razas locales de maíz. MAIZAR. http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=275

-FRANCO ELISEI D. 2018. Estudio de la tolerancia a salinidad en etapas vegetativas tempranas de germoplasma de *Lotus tenuis*. Tesis Ingeniería Agronómica. Pergamino,

Argentina. Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA). 60 p.

-FRANCO T.L y HIDALGO R. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico n°. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.

-GONZÁLEZ L.M., GONZÁLEZ M.C y RAMÍREZ R. 2002. Aspectos generales sobre la tolerancia a la salinidad en las plantas cultivadas. Cultivos Tropicales. 23(2): 27-37.

-GOYKOVIC CORTÉS V y SAAVEDRA DEL REAL G. 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. IDESIA. Chile. 25(3): 47-58.

-HOQUE M.M.I., JUN Z and GUOYING W. 2015. Evaluation of salinity tolerance in maize (*Zea mays L.*) genotypes at seedling stage. J. BioSci. Biotechnol. 4(1): 39-49.

-INSAURRALDE L., TOMÁS M.A., IACOPINI M.L., DE MARCO N., CARDAMONE L., GIORDANO M.C y DE BATTISTA J.P. 2014. Revista Argentina de Producción Animal. 34(1): 465-510.

-ISTA- Asociación Internacional de Ensayos de Semillas. 2017. http://www.seedtest.org

-KHAN A.S., ASAD M.A and ALI Z. 2003. Assesment of genetic variability for NaCl tolerance in wheat. Pak J Agri Sci. 40: 33-36.

-LAYNEZ-GARSABALL J.A., MÉNDEZ J.R y MAYZ-FIGUEROA J. 2007. Influencia del tamaño de la semilla de maíz (*Zea Mays L.*) en el crecimiento de la plántula en condiciones de salinidad. IDESIA. Chile. 25(2): 23-35.

-MAAS E.V and HOFFMAN G.J. 1977. Crop salt tolerance current assesment. J Irring & Drain Div ASCE 103: 115-134.

-MAITI R.K., DELGADO AMAYAI L.E., IBARRA CARDONAI S., ONTIVEROS DIMASI A.M., DE LA ROSA-IBARRA M and DE LEON CASTILLO H. 1996. Genotypic Variability in Maize Cultivars (*Zea mays* L.) for Resistance to Drought and Salinity at the Seedling Stage. J Plant Physiol. 148: 741-744.

-MURILLO-AMADOR B., REYES-PÉREZ J.J., NIETO-GARIBAY A., TROYO-DIÉGUEZ E., REYNALDO-ESCOBAR I.M., RUEDA-PUENTE E.O y GARCÍA-HERNÁNDEZ J.L. 2013. Tolerancia a la salinidad en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en las etapas

de germinación, emergencia y crecimiento inicial. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo. 29(2): 101-112.

-MUSITO-RAMÍREZ N., VEGA-SÁNCHEZ M.C y RODRÍGUEZ-VALDÉS J.G. 2004. Genotipos de Maíz Tolerantes a Salinidad; un Estudio Preliminar para iniciar un Programa de Selección. Revista Agraria Nueva Epoca. 1(3):6.

-PATTERSON H.D y THOMPSON R. 1971. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. Biornetrika 58, 545-554.

-PINCHAO PIEDRAHITA J.S. 2013. Estimación del potencial productivo del suelo (PPS) en un cultivo de maíz (*Zea mays*) afectado por salinidad en dos municipios del Valle del Cauca. Tesis Ingeniería Agrícola. Santiago de Cali, Colombia. Universidad del Valle. 115p.

-PUCHULÚ M.E. 2008. Salinización de los suelos. Su incidencia en la provincia de Tucumán y en la República Argentina. Acta geológica lilloana. 21(1):81-94

-RAHNAMA A., MUNNS R., POUSTINI K and WATT M. 2011. A screening method to identify genetic variation in root growth response to a salinity gradient. Journal of Experimental Botany. 62(1): 69-77.

-RAO A.S and MCNEILLY T. 1999. Genetic basis of variation for salt tolerance in maize (*Zea mays* L). Euphytica 108: 145–150.

-RHOADES J and LOVEDAY D. 1990. Salinity in irrigated agriculture, pp 1089-1142. In: Irrigation of Agricultural crops. American Society of Civil Engineers. Steward BA, Nilson DR eds. Am Soc Agron Mono. 30 p.

-RODRÍGUEZ A.C., GRANDA L.F., SUÁREZ R.C., PÉREZ D.O., LLORENTE O., GRANADO N.M y ACUÑA G. 2008. Efecto de la salinidad en la germinación y el crecimiento de plántulas de dos cultivares de maíz (*Zea Mays* L). Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT). 8 p.

-RUIZ M y TERENTI O. 2012. Germinación de cuatro pastos bajo condiciones de estrés salino. ΦYTON Revista Internacional De Botánica Experimental. Vicente López, Buenos Aires, Argentina. 81: 169-176.

-SÁNCHEZ R.M., DUNEL GUERRA L y SCHERGER M. 2016. Evaluación de las áreas afectadas por salinidad y/o sodicidad en Argentina. Estación Experimental Agropecuaria Hilario Ascasubi, Buenos Aires, Argentina. Ediciones INTA. 76 p.

-SANEOKA H., NAGASAKA C., HAHN D.T., YANG W.J., PREMACHANDRA G.S., JOLY R.J and RHODES D. 1995. Salt tolerance of glycinebetaine-deficient and -containing maize lines. *Plant Physiol.,* 107: 631-638.

-SERRATO SÁNCHEZ R., ORTÍZ ARELLANO A., DIMAS LÓPEZ, J y BERÚMEN PADILLA S. 2002. Aplicación de lavado y estiércol para recuperar suelos salinos en la Comarca Lagunera, México. Terra, 20(3): 329-336.

-SUÁREZ L.C. 2012. Efecto del estrés salino en la absorción de agua por las semillas y el crecimiento en plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*). Revista Granma Ciencia. 16(1).

-TABOADA M.A. 2017. Manejo por ambiente: Recuperación de suelos salinos. 3° Jornada Provincial de Suelos. CIAC: Colegio de Ingenieros Agrónomos de la Provincia de Córdoba. La Carlota, Córdoba.

-UDOVENKO G.V. 1976. Métodos de evaluación de la resistencia de plantas a los factores adversos del medio. Editorial Kolos, Leningrado. 318 p.

-USDA. 2019. https://www.infocampo.com.ar/maiz-el-usda-pronostico-que-la-produccion-mundial-del-cereal-sera-un-record-historico/

-VELÁZQUEZ-VENTURA J.C., RINCÓN-SÁNCHEZ F., RUÍZTORRES N.A y MARTÍNEZ-REYNA J.M. 2020. Respuesta al estrés por salinidad de familias s1 de dos poblaciones de maíz. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 7(1): 23-55.

-VERBEKE G and MOLENBERGHS G. 2000. Linear mixed models for longitudinal data. New York: Springer.

-VIÑAS J.M.S. 2012. Los retos de la agricultura para alimentar al mundo en 2050. Tiempo de paz. 106: 37-48.

-ZEPEDA JAZO I., CASAS RUÍZ N., SÁNCHEZ CEJA V.M., OROZCO VELAZCO M., HERNÁNDEZ VEGA A y HERNÁNDEZ VEGA J. 2017. Respuesta de variedades de maíz (Zea mays) al estrés salino en la región Ciénega Chapala, Michoacán. Tesis: Licenciatura en Genómica Alimentaria. UCEM, SAHUAYO, MICHOACÁN. 24p

-ZHU JK. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Current Opinion in PlantBiology. 6(5): 441-445.

10. ANEXOS

Anexo I:

En este apartado se muestra los datos de pasaporte de las 44 poblaciones seleccionadas de las diferentes zonas edafo-climáticas del país donde es posible que se den condiciones de estrés salino.

Código	Identificador	Forma racial	Localidad	Departamento	Provincia
ARZM11008	11008	PERLA	GUANPACHO	GUASAYAN	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11013	11013	PERLITA	GUASAYAN	GUASAYAN	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11019	11019	DENTADO BLANCO	CHOYA	CHOYA	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11020	11020	TUSON	SOL DE MAYO	CHOYA	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11021	11021	DENTADO BLANCO	LAS PEÑAS	CHOYA	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11024	11024	CALCHAQUI	CHOYA	CHOYA	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11029	11029	CALCHAQUI	SANTA CATALINA	GUASAYAN	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11038	11038	CRISTALINO COLORADO	PAMPA D. L. GUANACOS	COPO	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11039	11039	VENEZOLANO	PAMPA D. L. GUANACOS	COPO	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM11040	11040	VENEZOLANO	LOS PIRPINTOS	COPO	SANTIAGO DEL ESTERO
ARZM12046	12046	DENTADO BLANCO	COPACABANA	TINOGASTA	CATAMARCA
ARZM12079	12079	SOCORRO	LA CIENAGA	TINOGASTA	CATAMARCA
ARZM12080	12080	DENTADO BLANCO	LA CIENAGA	TINOGASTA	CATAMARCA
ARZM12084	12084	NO CLASIFICABLE	LA CIENAGA	TINOGASTA	CATAMARCA
ARZM12105	12105	COMPLEJO TROPICAL	HUALFIN	BELEN	CATAMARCA
ARZM12108	12108	DENTADO BLANCO	HUALFIN	BELEN	CATAMARCA
ARZM12113	12113	DENTADO BLANCO	VILLA VIL	BELEN	CATAMARCA
ARZM12187	12187	DENTADO BLANCO	ANDALGALA	ANDALGALA	CATAMARCA
ARZM12190	12190	DENTADO BLANCO	ANDALGALA	ANDALGALA	CATAMARCA
ARZM13034	13034	CRISTALINO COLORADO	PORTEZUELO	GRAL. JUAN. F. QUIROGA	LA RIOJA
ARZM13097	13097	CALCHAQUI	CHULO	GDOR. GORDILLO	LA RIOJA
ARZM13142	13142	PISINGALLO	AICUÑA	GRAL. LAVALLE	LA RIOJA
ARZM13147	13147	DENTADO BLANCO	AICUÑA	GRAL. LAVALLE	LA RIOJA
ARZM13159	13159	DENTADO BLANCO	PAGANCILLO	GRAL. LAVALLE	LA RIOJA
ARZM16005	16005	NO CLASIFICABLE	LOS OTOYANES	JUNIN	MENDOZA

ARZM16007	16007	DENTADO BLANCO	LOS OTOYANES	RIVADAVIA	MENDOZA
ARZM16008	16008	DENTADO AMARILLO	VISTALBA	LUJAN DE CUYO	MENDOZA
ARZM16022	16022	CRISTALINO COLORADO	GUAYMALLEN	GUAYMALLEN	MENDOZA
ARZM16024	16024	CRISTALINO BLANCO	GUAYMALLEN	GUAYMALLEN	MENDOZA
ARZM16029	16029	NO CLASIFICABLE	UGARTECHE	LUJAN DE CUYO	MENDOZA
ARMZ16035	16035	CRISTALINO COLORADO	LA CAÑADA	SAN CARLOS	MENDOZA
ARZM16055	16055	DENTADO BLANCO	COLONIA SAN PEDRO	GENERAL ALVEAR	MENDOZA
ARZM16059	16059	DENTADO AMARILLO	PARAJE LOS SIFONES	SAN RAFAEL	MENDOZA
ARZM16062	16062	DENTADO AMARILLO	LA ESCANDINAVA	GENERAL ALVEAR	MENDOZA
ARZM18012	18012	CRISTALINO COLORADO	SANTA TERESA	GUATRACHE	LA PAMPA
ARZM18015	18015	CRISTALINO COLORADO	GENERAL ACHA	UTRACAN	LA PAMPA
ARZM18016	18016	CRISTALINO COLORADO	COLONIA CHICA	PUELEN	LA PAMPA
ARZM18017	18017	CRISTALINO COLORADO	COLONIA CHICA	PUELEN	LA PAMPA
ARZM18020	18020	AMARILLO OCHO HILERAS	SANTA TERESA	GUATRACHE	LA PAMPA
ARMZ18021	18021	AMARILLO OCHO HILERAS	GENERAL ACHA	UTRACAN	LA PAMPA
ARMZ18029	18029	BLANCO OCHO HILERAS	COLONIA SANTA TERESA	GUATRACHE	LA PAMPA
ARZM18030	18030	BLANCO OCHO HILERAS	COLONIA SANTA TERESA	GUATRACHE	LA PAMPA
ARZM18033	18033	CRISTALINO COLORADO	CACHIRULO	TOAY	LA PAMPA
ARZM18035	18035	CRISTALINO COLORADO	CACHIRULO	TOAY	LA PAMPA

Anexo II:

En este apartado se muestran las estructuras de varianza y covarianza para los efectos residuales considerando correlación entre las observaciones y heterocedasticidad para el efecto aleatorio de ensayos. En el modelo 0 se asumió que los errores eran independientes y las varianzas homogéneas, en el modelo 1 se contemplaron errores independientes y varianzas heterogéneas y en el modelo 2 se consideraron que los errores estaban correlacionados y las varianzas eran heterogéneas. La selección del modelo para cada variable se realizó en base al criterio de información de Akaike (AIC). Un valor bajo de AIC identifica el mejor modelo entre los considerados, es decir, el que mejor se ajusta a la estructura de los datos con el menor número de parámetros a estimar. Se utilizará, el modelo 1 dado que es el que presentó menor valor de AIC para los datos de este trabajo.

Este primer paso para acomodar adecuadamente los diferentes estratos de error permite obtener mejores estimaciones de las variancias entre las poblaciones.

Valores AIC para las distintas estructuras de covarianza y varianza probadas

	LR	LA	PSR	PSA
M0	2422,32	2337,03	940,5	-90,49
M1	2170,43	2034,23	590,45	-245,32
M2	2177,47	2063,79	698,24	-160,52

VILLALÓN José Gastón
ECANA
Location: UNNOBA
Date: 2020.12.30 09:40:15 -0300