

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN MORFO-FENOLÓGICA DE LOTES
DE SEMILLA COMERCIALES DEL CULTIVAR *Lolium
multiflorum* Lam. ESTANZUELA 284**

por

**Guillermina ALGORTA CAPURRO
Fabrizio Franco DE MAIO DITO**

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2008**

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. (PhD.) Pablo Boggiano

Ing. Agr. (MsC.) Jaime García

Ing. Agr. (MsC.) Gerardo Camps

Fecha:

Autor:

Guillermina Algorta Capurro

Fabrizio De Maio Dito

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestros tres directores por su gran apoyo técnico y dedicación en la realización de este trabajo.

Al Instituto Nacional de Semillas (INASE) por proporcionarnos la semilla para la tesis y permitirnos el uso de sus instalaciones; a todo su personal por su compromiso y servicios prestados, y en especial a la Ing. Agr. Virginia Olivieri por su gran motivación para con nosotros y la tesis.

A la Ing. Agr. (PhD.) Mónica Cadenazzi por su cordial disposición en las corridas estadísticas de este trabajo

Al personal de Biblioteca y a la Lic. Sully Toledo por su atención con nosotros.

Y por último gracias a nuestros amigos y familiares por estar siempre con nosotros a lo largo de toda nuestra carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1 <u>INTRODUCCIÓN</u>	2
2.2 <u>VARIEDADES FORRAJERAS ALÓGAMAS</u>	3
2.2.1 <u>Factores que contribuyen al rendimiento en forma directa</u>	4
2.2.2 <u>La ley de Hardy-Weimberg</u>	4
2.2.3 <u>Métodos de selección</u>	5
2.2.4 <u>Variabilidad</u>	6
2.2.5 <u>Variedades comerciales</u>	8
2.2.6 <u>Proceso de certificación</u>	9
2.3 <u>DERIVA GENÉTICA</u>	11
2.3.1 <u>Consideraciones sobre genética de poblaciones</u>	11
2.3.1.1 <u>Variación genética</u>	11
2.3.1.2 <u>Selección, deriva y flujo de genes</u>	12
2.3.1.3 <u>Deriva: selección en poblaciones pequeñas</u>	13
2.3.2 <u>Interacción de factores ambientales y estabilidad de semilla en diferentes ambientes</u>	13
2.3.3 <u>Multiplicación sucesivas en distintos ambientes</u>	15
2.3.3.1 <u>Estabilidad del cultivar en generaciones siguientes</u>	20

2.3.4 <u>Estabilidad de S23 raigrás perenne en la multiplicación de semilla</u>	24
2.3.4.1 Fecha de emergencia de espiga.....	25
2.3.4.2 Requerimientos de frío.....	25
2.3.4.3 Crecimiento temprano de plantas jóvenes.....	25
2.4 MANTENIMIENTO VARIETAL DE FORRAJERAS ALÓGAMAS...	27
2.4.1 <u>Raigrás</u>	27
2.4.1.1 Parámetros de campo (aspectos genéticos) según I.N.A.S.E. aprobados en el 2007	27
2.4.1.2 Parámetros de laboratorio (aspectos físicos y fisiológicos) según I.N.A.S.E. aprobados en el 2007.....	28
2.5 UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES (UPOV), TG/1/3.....	29
2.5.1 <u>Introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales</u>	29
2.5.1.1 El examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad (‘examen DHE’).....	29
2.5.1.2 Tipos de expresión de los caracteres	30
2.5.2 ‘Examen de la distinción’, documento tgp/9	31
2.5.2.1 Observación de los caracteres	31
2.5.2.2 Métodos de observación de los caracteres	34
2.5.3 <u>Evaluación de la homogeneidad sobre la base de las plantas fuera de tipo</u>	35
2.5.3.1 Determinación de las plantas fuera de tipo mediante el examen visual	35
2.5.4 <u>Examen de la estabilidad</u>	36

2.5.5 <u>UPOV 2006. TG/4/8. Directrices para la ejecución del de la</u>	
<u>distinción, homogeneidad y la estabilidad en <i>Lolium sp.</i></u>	37
2.5.5.1 <u>Diseño del examen DHE de raigrás</u>	37
2.6 <u>DESCRIPTORES</u>	38
2.7 <u>ANTECEDENTES AÑO 2006</u>	39
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	42
3.1 <u>MATERIAL EXPERIMENTAL</u>	42
3.1.1 <u>Ubicación espacial y temporal del experimento</u>	42
3.1.2 <u>Precipitaciones</u>	42
3.1.3 <u>Suelo</u>	43
3.2 <u>MATERIAL GENÉTICO</u>	44
3.3 <u>MÉTODOS DE CAMPO</u>	44
3.4 <u>DISEÑO EXPERIMENTAL</u>	46
3.5 <u>VARIABLES OBSERVADAS</u>	46
3.5.1. <u>Características medidas en la etapa vegetativa</u>	46
3.5.2. <u>Características medidas en la etapa reproductiva</u>	48
3.5.3. <u>Mediciones de tipo cuantitativo realizadas luego de la</u>	
<u>cosecha</u>	49
3.6 <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u>	50
3.6.1. <u>Variables de distribución aproximadamente normal</u>	50
3.6.2. <u>Variables de ranking</u>	51
3.6.3. <u>Otras descripciones</u>	52
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	54
4.1 <u>ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA</u>	54
4.2 <u>PRUEBA DE DIFERENCIACIÓN DE MEDIAS</u>	69
4.3 <u>CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES CONTINUAS</u>	75
4.4 <u>ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES</u>	79
4.5 <u>ANÁLISIS DISCRIMINANTE</u>	81
4.6 <u>COORDENADAS PRINCIPALES</u>	82

5. <u>CONCLUSIONES</u>	86
5.1 CONSIDERACIONES FINALES	86
5.2 OBSERVACIONES FINALES.....	88
6. <u>RESUMEN</u>	90
7. <u>SUMMARY</u>	92
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	93
9. <u>ANEXOS</u>	97

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Características medidas durante etapa vegetativa y reproductiva.....	40
2. Variable Altura en estado vegetativo (cm.).....	54
3. Variable rendimiento (gr.).....	55
4. Variable largo de hoja (cm.).....	57
5. Diferencia de medias de largo de hoja (cm.) de los lotes contra el testigo	58
6. Variable ancho de hoja (cm.)	59
7. Variable largo de hoja bandera (cm.).....	60
8. Diferencia de medias de largo de hoja bandera (cm.) de los lotes contra el testigo	60
9. Variable ancho de hoja bandera (cm.).....	61
10. Diferencia de medias de ancho de hoja bandera (cm.) de los lotes contra el testigo	62
11. Variable relación largo-ancho de hoja (cm.).....	63

12. Diferencia de medias de relación largo – ancho de hoja (cm.) de los lotes contra el testigo	63
13. Variable días a floración (días)	64
14. Variable peso de mil semillas (gr.)	68
15. Variable susceptibilidad a roya	69
16. Variable color	70
17. Variable macollaje	71
18. Variable vigor.....	72
19. Variable porte en estado vegetativo	73
20. Variable porte en estado reproductivo	73
21. Correlación entre variables cuantitativas	75
22. Valores propios y proporción de la variación retenida por cada uno de los 2 primeros componentes principales en forma individual y acumulada resultado del análisis de componentes principales en base a 14 variables medidas en los 12 CV	79
23. Variables continuas con sus respectivos R2 para Stepwise	81

24. Correspondencia de distancias con lotes.....	82
25. Cuadro comparativo	86

Figura No.

1. Total de precipitaciones mensuales durante enero - diciembre de 2007.....	43
2. Rendimiento medio, mediana, máx., min., cuartil 1 y 3 por lote y media general.....	56
3. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de Daf.....	65
4. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de los dos primeros componentes principales (Prin 1 y Prin 2)	80
5. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de las 2 primeras dimensiones	83
6. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de las 2 primeras dimensiones para variables de ranking	85

1. INTRODUCCIÓN

En el Uruguay la especie *Lolium multiflorum*, comúnmente llamada raigrás anual ha ocupado un papel importante en el área de siembra como forrajera invernal. Según el Instituto Nacional de Semillas (INASE), el uso de semilla de raigrás en Uruguay fue de 9.400 toneladas en el año 2007. En función de los volúmenes importados en el mismo año (160 t), se deduce que gran parte de la semilla que se usa se produce en el país.

Las normas vigentes establecen que toda la semilla de raigrás debe comercializarse con identificación varietal. A nivel de la semilla de categoría Comercial, que es el gran volumen del mercado. En esta clase de semilla comercial la identidad varietal de los lotes producidos es responsabilidad de la Empresa productora. A esto se agrega el hecho de que la incidencia de la semilla Certificada en relación al volumen del mercado es muy baja. De manera que en esta especie, el gran volumen de semilla que se comercializa está básicamente fuera del control oficial en lo que a pureza genética se refiere.

El cultivar Estanzuela 284 está en el mercado desde hace más de 50 años, siendo durante muchos años el cultivar más sembrado. Actualmente hay 27 cultivares de raigrás anual autorizados para comercializar en el país. En la medida que las variedades de raigrás son poblaciones alógamas de generalmente alta variabilidad y en el contexto de producción de semillas anteriormente descripto, cabe preguntarse si la semilla Comercial de raigrás LE284 que se vende en el país responde al tipo varietal.

El objetivo de esta Tesis fue analizar si lotes de semilla Comercial identificada como del cv Estanzuela 284 responden efectivamente al tipo varietal. Para esto se realizó un estudio de campo para comparar 11 lotes Comerciales con el lote Fundación de Estanzuela 284 mantenido por INIA La Estanzuela. Dichos lotes Comerciales fueron obtenidos por INASE mediante un muestreo de varias empresas semilleristas de Uruguay.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. INTRODUCCIÓN

La especie *Lolium multiflorum*, conocida comúnmente como raigrás anual, es una de las forrajeras más importantes a nivel mundial. En el Uruguay es ampliamente utilizada como verdeo invernal y/o componente de distintas pasturas. El uso de esta especie en el país ha estado concentrado mayoritariamente en el cv. Estanzuela 284 y poblaciones derivadas. Si bien en el mundo existen muchos cultivares y programas de mejoramientos muy activos, recién en los últimos años comienzan a utilizarse otras variedades (García, 1998).

Dentro de la especie *Lolium multiflorum*, los distintos cultivares pueden agruparse en dos tipos:

- a. Tipo multiflorum: cultivares que tienen requerimientos de frío para florecer y que por lo tanto los macollos que se producen a partir del invierno permanecen vegetativos sin florecer; por consiguiente, pueden comportarse como bianuales (Ej. INIA Titán).
- b. Tipo westerwoldicum: cultivares sin requerimientos de frío para florecer y que tienen un comportamiento estrictamente anual por ej. Estanzuela 284, INIA Cetus (García, 1998).

A su vez, presenta un desarrollo vegetativo variable según su ploidía, donde los cultivares tetraploides ($2n=28$) generalmente presentan pocos macollos de gran grosor y hojas de lámina ancha y color verde oscuro, en contraste con los diploides ($2n=14$) con mayor cantidad de macollos pero de menor grosor y hojas de lámina más angosta y de color verde más claro (Goodenough, 1995).

La primera variedad uruguaya de esta especie, el cultivar Estanzuela 284, fue seleccionada en La Estanzuela por el Ingeniero Teófilo Henry en 1949, sobre material introducido de Brasil. Este es un material excelente en cuanto a su producción invernal y sus principales limitaciones son su bajo vigor inicial y su floración muy temprana (García, 1996).

Como todas las variedades forrajeras alógamas, el raigrás Estanzuela 284 tiene amplia variabilidad y por tanto es posible mediante selección dirigida lograr cambios en la población. Mediante tres ciclos de selección fenotípica recurrente (García, 1979) obtuvo poblaciones de hábito contrastantes y floración más tardía. El cv. INIA Cetus, más postrado y diez días más tardío que Estanzuela 284 deriva de ese programa de selección.

2.2. VARIEDADES FORRAJERAS ALÓGAMAS

Las variedades de forrajeras alógamas se caracterizan por una gran variabilidad entre individuos, los que a su vez son altamente heterocigotas para muchos caracteres.

Burton y De Vane, citados por Griffiths et al. (1983) concluyen que la selección a favor del rendimiento de semilla si bien determina progresos genéticos importantes en este carácter, este se hace a expensas de un menor rendimiento de forraje. Sin embargo para que una especie tenga importancia en el plano económico, es indispensable que tenga un potencial satisfactorio en producción de semilla (Griffiths et al., 1983).

Sin embargo otros autores encontraron que el porcentaje de flores fértiles con heredabilidad alta lograba aumentar el rendimiento de semilla sin perjuicio del rendimiento forrajero Bean, citado por Shah et al.(1990). Por el contrario si se aumenta el número de inflorescencias, se traduciría en una disminución en la producción de hojas ya que existe una correlación negativa entre estas características. La selección de plantas

con mayor producción de semilla por la inflorescencia además de no afectar la aptitud forrajera de la especie, minimiza también los riesgos por deriva genética (Bean, citado por Carámbula, 1981).

2.2.1 Factores que contribuyen al rendimiento en forma directa

Un aspecto principal que el fitotecnista debe considerar al intentar mejorar la producción de semilla es conservar aquellos atributos que determinan que cierta variedad sea valiosa. En consecuencia, Bean (1972) ha puesto énfasis en que la capacidad de producción de semilla debe aumentarse a través del mejoramiento de la eficiencia del sistema reproductivo, considerándose a la eficiencia como el porcentaje de flores que producen semilla y el tamaño que estas adquieren, más que un aumento en el tamaño del sistema reproductivo mediante selección a favor de un mayor número de inflorescencias y mayor tamaño de las mismas.

La selección de plantas con producción de polen y capacidad de formación de semilla uniformemente alta no solo mejora el potencial de producción de semilla, sin afectar las características forrajeras, sino que también minimiza los riesgos de deriva genética tras sucesivas generaciones de multiplicación de semilla (Bean, 1972).

2.2.2. La ley de Hardy-Weimberg

La moderna genética de poblaciones se basa en una proposición deducida independientemente por Hardy en Inglaterra en el año 1908 y por Weimberg en Alemania, en 1909. En su forma actual se puede establecer esta proposición como sigue: Si en una población infinitamente grande y con apareamiento libre al azar, un gen esta representado por los alelos A y a, de igual adaptabilidad, en la proporción $qA: (1-q)a$, las frecuencias de estos alelos permanecerán constantes a no ser que haya alguna alteración debida a: 1) selección; 2) apareamiento no efectuado al azar; 3) migración diferencial, o

4) mutación diferencial de A---a o a---A. Además, el equilibrio con respecto a este par de alelos se alcanza en una sola generación de apareamiento al azar, cualquiera que sea la composición inicial de la población.

La migración es un término que describe los efectos que se producen al introducir genotipos extraños dentro de las poblaciones en mejora. Puede ser responsable de la introducción o del cambio de la frecuencia de alelos ya existentes hacia los valores más altos o más bajos.

2.2.3. Métodos de selección

Los métodos más importantes que se aplican en las especies de fecundación cruzada son la selección masal, retrocruzamiento, hibridación de líneas puras o de otra clase de material apto para formar variedades híbridas, selección recurrente y la formación de variedades sintéticas a partir de genotipos seleccionados (Allard, 1967).

La selecciones individuales son muy raramente efectivas para la obtención de una variedad, ya que la segregación hace que la descendencia se desvíe del tipo de los genitores y porque una reducción enérgica en el tamaño de la población generalmente tiene efectos perjudiciales en el vigor y en la productividad. En plantas de polinización cruzada se utilizan más la selección masal y los procedimientos estrechamente relacionados con ella, como la selección de descendencia y de líneas, que la selección individual (Allard, 1967).

La selección masal en poblaciones de fecundación cruzada es un medio muy poco apto y débil de alcanzar la fijación aún de caracteres monogénicos altamente heredables, más aún naturalmente de caracteres de baja heredabilidad. Esta es una de las razones por la que se ha tendido a suplantarse la selección masal por otros métodos de mejora en esta clase de plantas (Allard, 1967).

2.2.4. Variabilidad

Vavilov (1951), afirma que la Fitotecnia es la evolución dirigida por el hombre, por lo que dependerá como toda evolución de la variación existente. De ahí que el tema de la variación sea un problema central al encarar el manejo de los recursos genéticos.

Hay dos tipos de variación entre individuos de una misma especie:

- a) la que produce el genotipo (genética)
- b) la que produce el ambiente (ambiental)

La que nos interesa es la variación genética ya que es la que podemos manejar operando sobre ella a través de la selección. Sin embargo debemos tener presente que la selección tanto natural como artificial actúa directamente sobre fenotipos y solo indirectamente sobre genotipos. Por lo tanto la respuesta de la población va a estar influida por el ambiente, y la selección va a ser menos efectiva cuanto mayor sea la importancia de las diferencias ambientales (Kenneth, 1973).

Las fuentes de variación que son la mutación y la recombinación genética son los mecanismos que permiten la adaptación de los seres vivos a distintos ambientes actuando conjuntamente con la selección, que disminuye la variación a favor de los genotipos mejor adaptados. Este equilibrio dinámico que se establece entre los factores que aumentan y los que disminuyen la variabilidad es la esencia de la evolución. En este sentido Kenneth (1973) afirma que no existen dudas de que la variación génica es la base de la adaptación y la evolución, ya que ningún otro tipo de variación está tan extendida en poblaciones ni es tan característica de las diferencias entre especies; y por eso la herencia cuantitativa, con muchos genes de pequeño efecto individual, asegura la capacidad de adaptación y genera la evolución.

Turesson (1922) desarrolló el concepto de ecotipo como el producto resultante de la respuesta genotípica de una especie a un hábitat particular. Se podría decir que los ecotipos son poblaciones que se diferencian entre sí morfológicamente o fisiológicamente en función de estar adaptados a distintos hábitat. Pero pueden intercambiar genes, estando éste intercambio limitado únicamente por barreras ambientales. O sea que son poblaciones distintas que por ser ínter fértiles pertenecen a una misma especie.

Esta variación que encierran las especies es justamente la base del trabajo de mejoramiento. Vavilov (1951) afirma que la especie representa un sistema morfofisiológico más o menos claramente heterogéneo y variable, cuyo origen está asociado a un medio ambiente y a un área particular.

Lolium es un género con varias especies cultivadas y naturalizadas en regiones templadas de todo el mundo (Burkart, 1969). Las especies *Lolium multiflorum* Lam. (Raigrás anual) y *Lolium perenne* L. (Raigrás perenne) y sus cultivares están ampliamente difundidos por su excelencia forrajera invernal y primaveral, pero su alogamia y la coincidencia de sus períodos de floración permiten el cruzamiento entre ambas. Esto, sumado a las mezclas mecánicas y a la semejanza morfológica de sus antecios ocasionan problemas cuando se desea realizar la verificación de las especies y sus cultivares a nivel de semilla, siendo necesaria su caracterización.

De las técnicas que se han investigado para distinguir cultivares de raigrás anual y raigrás perenne y sus cultivares, aquellas que son poco influenciadas por el ambiente como las bioquímicas han mostrado ciertas ventajas. Estas son el enfoque isoeléctrico y la electroforesis en geles de almidón y de poliacrilamida, ya sea de enzimas foliares o proteínas de semillas (Kransky y Buta 1979, Nakamuta 1979, Galussi et al. 1996).

2.2.5. Variedades comerciales

Son las variedades o cultivares normalizados y comercializados que, en general, han sido obtenidas por fitomejoradores profesionales. Si bien estas variedades resultan generalmente de uno o más ciclos de selección dirigida, conservan generalmente una amplia variabilidad genética.

La multiplicación de semilla de las variedades comerciales para promover el desarrollo y satisfacer la demanda del mercado es un proceso de gran importancia dada la alta variabilidad genética de las forrajeras alógamas y por consiguiente los cambios que pueden originarse durante las sucesivas etapas de multiplicación.

Las técnicas para multiplicar o rejuvenecer las poblaciones evitando la contaminación genética deben tener en cuenta las características reproductivas de cada especie y fundamentalmente el porcentaje de alogamia.

Conviene que el lugar donde se multiplique el material tenga características ecológicas similares a aquel en que fue recolectado, con el fin de evitar una selección indeseada que puede alterar las frecuencias alélicas e incluso eliminar los individuos más sensibles a ciertos factores edafo-climáticos. La elección del lugar de multiplicación es especialmente importante en especies exigentes en fotoperíodos, integral térmica o vernalización.

Las decisiones sobre el número mínimo de semillas así como la elección de la técnica y lugar adecuados para multiplicar o rejuvenecer el material deben ser tomadas en cada caso por personal especializado, para reducir al mínimo la pérdida de la variabilidad genética inicial.

Todas las plantas en las poblaciones de alógamas son muy heterocigóticas, y casi sin excepción la consanguinidad prolongada produce una disminución del vigor y otros efectos perjudiciales.

La heterocigosis parece ser una característica esencial de las variedades comerciales de estas especies y por tanto debe conservarse durante el programa de mejora o restaurarse como una etapa final del mismo (Allard, 1967).

2.2.6. Proceso de certificación

Los métodos de certificación buscan mantener la identidad genética de los cultivares y siguen este esquema general:

1. El productor de semilla ha de sembrar semilla fundacional, registrada, o certificada de una variedad aprobada. En cada finca solo puede cultivarse una variedad de cada especie, excepto en los casos en que haya sido aprobado previamente por la agencia de certificación.
2. La semilla debe sembrarse en parcelas que no hayan sido sembradas con otra variedades de la misma especie durante un periodo determinado, para que no se produzcan plantas espontáneas que podrían afectar la pureza genética de la semilla certificada. La parcela tampoco ha de haberse cultivado durante cierto período, que depende de la especie, con otras especies semejantes que podrían afectar la pureza. También se precisa que este libre de malas hierbas.
3. La parcela productora de semilla ha de estar convenientemente aislada de otras variedades de la misma especie. La Internacional Crop Improvement Association proporciona orientación sobre las distancias mínimas recomendadas para las diversas especies cultivadas y las distintas clases de semillas.

4. Las inspecciones de los campos son realizadas por representantes de la agencia de certificación. Aunque la frecuencia y el objeto de la inspección varían de una especie a otra, en general comprueban la limpieza absoluta de plantas anormales, el aislamiento conveniente, la perfección del despendonado o la ausencia de polinización en las líneas androestériles y otros factores que podrían influir la pureza genética. Se inspecciona también la presencia de enfermedades transmitidas por las semillas y de malas hierbas.

5. Las inspecciones pueden realizarse en cualquier momento para observar la recolección, limpieza, almacenamiento o etiquetado. La agencia certificadora recibe una muestra representativa de cada lote tal como es puesto a la venta, ensayándose en ellas las impurezas, poder germinativo y otros factores que afectan a la calidad.

6. Todas las partidas de semillas vendidas como certificadas deben etiquetarse con una etiqueta oficial fijada adecuadamente a cada envase y sellada.

En cada país, las Autoridades Nacionales respectivas dictan y hacen cumplir las normas vinculadas con la Certificación de semillas. Existen además normas aceptadas internacionalmente como las de la OECD que son muy utilizadas en el comercio mundial de semillas.

2.3. DERIVA GENÉTICA

2.3.1. Consideraciones sobre genética de poblaciones

La estructura genética de una población determina su capacidad de respuesta a la selección tanto natural como artificial, y esto es una consideración primordial en la formulación de estrategias para la colecta y conservación de biodiversidad. La estructura de la población es controlada por varios factores como: forma de vida, sistema de crianza y tamaño efectivo de población.

Estos factores, que usualmente reflejan pasadas presiones de selección, toda la influencia de la naturaleza y el mantenimiento de la variación genética dentro y entre poblaciones y en algunos casos están sujetos a determinación genética. En la conservación de biodiversidad es remarcable el control de la variabilidad genética, que es de mayor importancia en determinar estrategias apropiadas (Hayward y Sackville, 1997).

2.3.1.1. Variación genética

El fenotipo de un organismo es controlado por una multitud de genes que actúan tanto individualmente y de acuerdo sobre los variados estados de desarrollo, y son influenciados al variar grados por el ambiente. Sus acciones llevan en la mayoría de los casos, a una expresión cuantitativa de las formas de crecimiento que son continuamente distribuidas en la naturaleza (Hayward y Sackville, 1997).

Si el modo de reproducción es por cruzamiento al azar a nivel de un solo locus, los genotipos individuales deben ser encontrados en proporciones Hardy-Weimberg

($p^2:2pq:q^2$), donde p y q representan las frecuencias dialélicas. Cuando se extiende a muchos loci puede verse que las clases homocigotas extremas así como sus fenotipos son raros en las poblaciones. Estos genotipos, que representan libre variabilidad y son directamente fijados por selección, tienen la capacidad de crear clases intermedias de genotipos por hibridación y segregación (Kenneth, 1973). Es entonces que la mayoría de los individuos producidos serán diferentes en sus genotipos tanto homocigotos como heterocigotos.

Estas distintas clases de genotipos nuevamente tienen el potencial de liberar variación por hibridación y segregación (Hayward y Sackville, 1997).

2.3.1.2. Selección, deriva y flujo de genes

La diferenciación de poblaciones depende de tres procesos: selección, deriva y flujo de genes. Las fuerzas de selección que reflejan las presiones del ambiente y actúan a lo largo de la población son un instrumento para definir la remarcable estructura genética (Hayward y Sackville, 1997).

La deriva al azar, particularmente en pequeñas poblaciones, puede llevar arbitrariamente a fijación de genes. La inmigración de nuevos genes de distintivas poblaciones vecinas pueden incrementar la dimensión, tanto de la respuesta selectiva como de la deriva, introduciendo nuevos alelos, o se puede ver reducida debido a la introducción repetida de genes adaptados a diferentes ambientes y que tienen una micro adaptación retardada a las condiciones locales. Sumado a esto, la forma de vida y persistencia del banco de semillas deben de estar todas influenciadas por la capacidad de selección que las llevan a adaptarse en la localidad (Hayward y Sackville, 1997).

2.3.1.3. Deriva: selección en poblaciones pequeñas

El grado de deriva genética es inversamente proporcional al número de individuos en una población. Esto afecta a todos los genes, pero especialmente a aquellos que no están sujetos a fuertes presiones de selección. Entonces, dos pequeñas poblaciones son propicias a diferenciarse en deriva genética en todas las partes polimórficas del genoma. Esto marca contraste con la variación asociada con la adaptación a ambientes particulares, que generalmente envuelven relativamente pocos genes (Hayward y Sackville, 1997).

A pesar de que alelos alternativos están en frecuencias intermedias, la selección (especialmente contra recesivos) es muy lenta, requiriendo de muchas generaciones. En muchas poblaciones, especialmente esas de pequeño tamaño, mutaciones nuevas pueden establecerse, se cree que no son favorecidas por la selección natural sino simplemente por el proceso de deriva genética al azar. Estos pequeños cambios en diferentes frecuencias alélicas a lo largo del genoma pueden llevar a una eventual formación de nuevas especies (Griffiths et al., 1998).

2.3.2. Interacción de factores ambientales y estabilidad de semilla en diferentes ambientes

Un cultivar debe ser definido como una particular combinación de plantas, y su utilización va a depender de la reacción de dichas plantas a un ambiente dado (Kelly y Boyd, 1966).

A veces las semillas de forrajeras son producidas en una región distinta a las de su origen. Las condiciones ambientales en que las semillas van a crecer tienen profundo

efecto en el comportamiento de la planta desde los estados vegetativos a los reproductivos de ella (Kalton et al., 1996).

Cuando se multiplica semilla fuera del área de utilización no se quiere que ocurran cambios genéticos en las poblaciones varietales ni en la performance del cultivar, ya sea para la obtención de las pequeñas cantidades requeridas por el criador o de las grandes cantidades necesarias para comercializar (Cooper et al. 1959, Stanford et al. 1962, Kelly y Boyd 1966, Knowles y Christie 1972).

Muchos trabajos han reportado la influencia del ambiente en la estabilidad de características varietales de semillas de cultivos (Valle 1960, Zaleski 1962, Garrison 1964).

En cada caso, a pesar de que la multiplicación ha sido en otro país, lejos del país de origen de los cultivares testeados, no se encontraron evidencias que demuestren que estos cultivares se mantengan estables tanto en uno como en otro país (Kelly y Boyd, 1966).

Esto es debido a que la diversidad genética existente en una variedad hace difícil la constancia genética al multiplicarla (Beard, 1952).

Si bien se mantienen los factores de manejo, se pueden producir cambios en los cultivares causados por los distintos ambientes, por las diferentes latitudes, condiciones climáticas anuales, edáficas, bióticas y enfermedades que pueden simplemente incrementar la frecuencia de determinados genotipos en las siguientes generaciones. Y así generación tras generación las poblaciones pueden llegar a cambiar significativamente.

Diferentes tipos de comportamientos reproductivos llegan a causar cambios genotípicos que resultan en cambios de la integridad del cultivar, documentándose el cambio genético (Kalton et al., 1996).

Cuando se multiplica semilla, manejándola correctamente y utilizando un límite en el número de generaciones permitidas a partir de la semilla básica, las características de la población obtenida generalmente son similares a las que son criadas directamente de la semilla original (Simon 1979, McAllister 1964, Bula et al. 1965, Kelly y Boyd 1966).

Sin embargo, existe evidencia considerable (Smith 1955, Laude y Standford 1960, Bula 1966) que muestra que en el caso de alfalfa (*Medicago sativa*) y tréboles (*Trifolium sp.*) pueden cambiar luego de una generación puestos en un clima diferente. Afortunadamente esos cambios no son de importancia económica mientras el número de generaciones son limitadas (Knowles y Christie 1972, Dean 1982).

En cuanto a la estabilidad de gramíneas forrajeras, existe una tendencia general de un cambio en la emergencia temprana de la inflorescencia en los cultivares cuando la semilla es cosechada de cultivares sembrados con semilla de generaciones avanzadas, tanto en *Lolium sp.*, como en *Phleum pratense* (Kelly y Boyd, 1966).

Algunos cambios en poblaciones de gramíneas forrajeras durante la multiplicación de la semilla en diferentes ambientes también fueron reportados por (Davies 1954, Calhoun et al. 1978).

2.3.3. Multiplicaciones sucesivas en distintos ambientes

El continuo avance generacional en la producción de semilla del cultivar puede llevar a ampliar el cambio genético (Kalton et al., 1996).

Al contrario de las expectativas, estos cambios no siempre son acentuados cuando se siembra en un ambiente lejos del lugar original de crianza. En raigrás perenne S23 se observaron cambios hacia una precocidad mayor dependiendo de la región, como es el caso de Inglaterra en comparación con California. En esta última se logra una mayor oportunidad de que todas las plantas más atrasadas del cultivo maduren antes de la cosecha. También notaron una tendencia en precocidad en la segunda generación de la multiplicación de la semilla (Kelly y Boyd, 1966).

A su vez Davies (1954) en el estudio de 6 generaciones de raigrás perenne (*Lolium perenne*, S-23) en Inglaterra, también había encontrado un cambio marcado en precocidad a lo largo de las generaciones sucesivas.

Debido a que en raigrás de tipo italiano no se ha investigado previamente, y se necesitan datos de posibles cambios poblacionales, se llevo a cabo un experimento en Japón y EEUU. Rincker et al. (1982) multiplicaron la semilla por dos generaciones en cuatro lugares en EEUU y uno en Japón, y se midieron características de crecimiento, germinación y respuesta a enfermedades.

Solamente se encontraron diferencias significativas entre localidades en vigor primaveral y días a antesis respectivamente. Con esto se puede concluir que se puede multiplicar semilla en distintos ambientes sin que ocurran cambios determinantes en características de planta (Rincker et al., 1982).

Así como respondiendo a las influencias climáticas y de manejo, las variedades pueden cambiar simplemente aumentando la frecuencia de ciertos genotipos a través de generaciones de multiplicación de semilla. Progresivamente emergencias tempranas

fueron vistas en raigrás perenne S23 después de varios ciclos de producción de semilla (Davies 1954, Cooper 1959).

Cambios durante la multiplicación de la semilla son menos notables en *Lolium perenne* y *Lolium multiflorum* que en el híbrido *Lolium perenne* X *Lolium multiflorum*, debido a que sus bases genéticas son más estrechas. Rumball comparó plantas de dicho híbrido (variedad “Grasslands Manawa”) y líneas de control de *Lolium perenne* (variedad “Grasslands Ruanui) y *Lolium multiflorum* (variedad “Grasslands Paroa), criadas de líneas de diferentes generaciones cosechadas en distintas regiones geográficas de Nueva Zelanda (Rumball, 1970).

La regresión de la varianza de generaciones de semilla cosechada presentan coeficientes negativos (todos menos uno). Esta tendencia indica una pérdida de los genotipos más extremos entre las líneas durante las generaciones de incremento de semilla (Rumball, 1970).

Luego de estudiar las diferencias significativas de los efectos entre regiones y entre explotaciones de una misma región, para germinación, test de florescencia y rebrote entre otras, no se pudo encontrar un patrón de variación regional (Rumball, 1970).

A su vez, el cultivar Manawa de Nueva Zelanda, *Lolium (perenne * multiflorum)* mostró cambios significativos en morfología y hábitos de crecimiento después de siete generaciones de producción de semilla. Los cambios no fueron asociados con la región de producción de semilla (Rumball, 1970).

Al comparar dichos cambios con las variedades G. Paroa (*L. multiflorum*) y G. Ruani (*L. perenne*), en todos los casos excepto para fecha de emergencia los cambios fueron en mayor dirección de “Paroa” que de “Ruanui” (Rumball, 1970).

Esta tendencia a través de las plantas de tipo “Paroa” (*Lolium multiflorum*), pudo haber resultado por segregación y selección de genes, o por contaminación, o por una mezcla de los dos, entonces es importante considerar la extensión de cada uno. Esta contaminación pudo haber sido posible por un desvío en la polinización cruzada o por la germinación de semilla enterrada ya sea de “Paroa” o de la selección temprana de raigras certificado de corta rotación, el cual era comercialmente disponible hasta 1963 y era más parecido a “Paroa” que la selección tardía. Este tipo de contaminantes serían extremadamente difíciles de identificar en un campo de “Manawa” justo antes de la cosecha de semilla, no siendo así con los tipos de raigrás que presentan floraciones más tempranas como “Ruanui” (Rumball, 1970).

A pesar de que los resultados perse sugieren que la contaminación fue la principal causa del cambio. Primero, no existieron incrementos notables en variaciones dentro de las líneas, como sería esperado en una contaminación. Segundo, en la contaminación al azar sería esperado que existieran fluctuaciones entre las líneas dentro y entre generaciones, en contraste a los resultados obtenidos aquí, en los que las principales líneas fueron agrupadas juntas por muchos caracteres y usualmente existió un ligero cambio de una generación a otra. Además, si la contaminación juega algún papel, el cambio significativo a través de “Paroa” durante la multiplicación de la semilla es probablemente debido principalmente a la selección natural de una planta de tipo “Paroa” (Rumball, 1970).

Cuando se habla de variaciones de las líneas, en todos los caracteres excepto uno, existe una tendencia de la varianza a disminuir durante la multiplicación de la semilla. Esta tendencia es significativa en solo un carácter, y disminuye un 3% de la varianza

principal de siete caracteres, por generación. Basándose en los ejemplos dados por Lush (1945), éste rango de disminución puede representar una fuerte presión de selección natural para uniformidad. Desde el punto de vista de retener la variación genética, y por ende la adaptabilidad potencial en una población parecería ser oportuno estudiar más allá de la realidad de esta tendencia (Rumball, 1970).

Si las condiciones climáticas en el área de la producción de semilla difieren de las condiciones originales de los cultivares, la selección natural puede afectar la estructura poblacional y el rendimiento forrajero del cultivar. El largo del día y la temperatura son vistos como los principales factores climáticos gobernantes de la iniciación y desarrollo de las inflorescencias (Bommer 1959, Cooper 1960).

La selección natural en la región de la producción de semilla actúa en la diversidad favoreciendo ciertos componentes de una sintética y con depresión de otros. Si el componente rendimiento de semilla incrementa relativamente los otros, esto se vera reflejado en la cosecha de semilla y alterara su composición genética (Horton y Standford, 1960).

Horton y Standford (1960) compararon lotes de semilla de trébol tipo ladino, donde cosechados en años sucesivos provenientes de un stand de semilla, reflejan diferencias en la supervivencia de genotipos, en habilidad competitiva en estado vegetativo y en producción de semilla de plantas voluntarias.

Las condiciones ambientales prioritarias para cada cosecha difieren considerablemente y en un escenario los resultados indicaron la responsabilidad de las mismas plantas para diferentes ambientes (Horton y Standford, 1960).

Existen muchos y variados efectos ambientales como ser la temperatura y radiación como principales. Lindsey y Peterson, citados por Kalton et al. (1996) reportaron que altas temperaturas (32,2 °C) durante el principio de la floración causa reducción en la producción de semilla de algunos genotipos

Knowles y Christie (1972) con el objetivo de encontrar si las variedades del sur se modifican al multiplicarlas en el norte, utilizaron semilla certificada de tres cultivares de *Bromus inermis* Leyss producidos en el oeste de Canadá y los compararon con semilla original y fundación de Nebraska, Nueva York e Iowa.

Los resultados muestran que no presentaron serios cambios de patrón ni pérdidas de productividad cuando se cultivaron variedades sureñas en el oeste de Canadá mientras las multiplicaciones generacionales realizadas hayan sido limitadas como para minimizar alteraciones (Knowles y Christie, 1972).

A su vez, las diferencias significativas en rendimiento de semilla encontradas entre lotes de una misma variedad, fueron atribuidas a las condiciones ambientales locales, factores de manejo y enfermedades (Knowles y Christie, 1972). No se habla de contaminación como sugiere LeLacheur (1962) de *Bromus sp.* espontáneo, el cual presenta una superior producción de semilla, ya que no ocurrieron incrementos de rendimiento.

2.3.3.1. Estabilidad del cultivar en generaciones siguientes

Sucede en las forrajeras perennes de polinización abierta que cuanto más larga sea la floración, esta puede causar cambios en la frecuencia de genotipos particulares en un cultivar. Genotipos tempranos tienden a cruzarse con otros genotipos tempranos. Si se

realiza cosecha temprana para evitar pérdida de semillas, se logra indirectamente eliminar los genotipos tardíos (Kalton et al., 1996).

A medida que aumenta la cantidad de semilla, es necesario el avance generacional requiriendo un manejo cuidadoso para mantener la integridad del cultivar. Esta es la primera razón que lleva a limitar el número de generaciones para la certificación de semilla del cultivar (Kalton et al., 1996).

Cambios en la frecuencia genotípicas de cultivares como resultado del avance generacional o de la localización de producción de semilla fueron encontrados en raigrás (Cooper 1959, Kelly y Boyd 1966, Rumball 1970, Simon y Kastenbauer 1979, Ringcker et al. 1982).

Los cambios genéticos fueron más acentuados a medida que avanzaban las generaciones por el aumento de semilla y usualmente resultaba en plantas maduras altas y tempranas (Kalton et al., 1996).

Las plantas que maduran temprano tienden a producir mayor rendimiento en las áreas de mayor producción que las de maduración tardías. Esta mayor cantidad de semillas es el resultado de una mayor y uniforme producción de semilla debido a una alta cantidad de macollos. Existe una gran nube de polen cuando hay más macollos floreciendo al mismo tiempo (Kalton et al., 1996).

Plantas de maduración tardía tienden a florecer durante un periodo de tiempo mayor que las plantas tempranas, por lo tanto menos polen es disponible, existe mayor aborto de semillas y la semilla producida es menos uniforme (Kalton et al., 1996).

Evaluaciones de vigor primaveral de las progenies de raigrás perenne fueron en todos los casos significativamente menores que en las poblaciones de semilla original. Todas las poblaciones tienen un crecimiento más erecto en primavera el año siguiente a la siembra de la semilla original. Se noto un cambio significativo hacia una fecha de emergencia más temprana en todos los progresos. Claramente el cambio creció con el decrecimiento de la latitud en la producción de semilla (Bommer 1959, Cooper 1960, Cooper y Calder 1964, McWilliam y Jewiss 1973).

Otras variaciones entre localidad y generaciones ocurrieron en raigrás perenne. Se sabe que dicha especie requiere frío y/o días cortos para la inducción floral y días largos para la iniciación de espigazón, pero hay diferencias cuantitativas al respecto; biotipos tardíos, que son usualmente de hábito más postrado, más invernales y más persistentes, requieren una mayor periodo de temperaturas bajas que los biotipos precoces (Uwe y Kastenbauer, 1977).

La multiplicación de semilla en latitudes menores favorecería los biotipos más tempranos y suprimiría aquellos biotipos más tardíos con requerimientos de temperatura y largo de días que no serán encontrados. Por lo tanto la desviación de la población original de semilla o de lotes correspondientes es mayor en las generaciones más avanzadas (Simon 1963, Aitken 1966).

Varios autores, mostraron que las poblaciones de plantas pueden cambiar cuando son multiplicadas en regiones distintas a las de su origen, particularmente a través del efecto de la latitud en respuesta a la floración y rendimiento de semilla; pero no se detectaron efectos regionales a pesar de todos los cambios sistemáticos ocurridos (Dovrat et al., 1968).

En muchas especies no cultivadas como muchos de los pastos herbáceos y legumbres, la variación genética en el material inicial no puede ser eliminado; y las escalas de certificación de la semilla son designadas para minimizar cambios entre stocks de fundación y semilla certificada que el productor recibe (Evans, 1950).

Para la certificación de la semilla, el énfasis está en el control de las generaciones de los cultivares de forrajeras. Sería necesario agregar a la descripción del cultivar el apropiado número de generaciones que el criador del material parental puede realizar para asegurarse que la multiplicación del cultivar sea mantenida razonablemente dentro de los parámetros de la descripción. También depende del método de mantenimiento del cultivar adoptado por el criador (Kelly y Boyd, 1966).

El lugar en que se produce la semilla puede causar cambios en los cultivares, mayores o iguales que los distintos efectos de maduración, debido a la distinta respuesta al fotoperíodo entre los genotipos (Kelly y Boyd, 1966).

La selección ambiente desde seco, caliente, y presión de enfermedades también son causas de ocurrencia de cambio genético (Kalton et al., 1996).

Desde el punto de vista práctico es importante saber si el cambio ocurre con años sucesivos de producción en un campo de semilla. Horton y Standford (1960) encontraron diferencias en intensidad de floración en fechas de cosechas tempranas y tardías para tres años consecutivos en trébol de tipo ladino.

Usando un cultivar de raigrás perenne, Cooper (1959) mostró que un cambio temprano resulta de producir semilla en una localidad distinta al que el cultivar fue desarrollado. Pero este grado del cambio depende sobre todo de las prácticas de manejo realizadas durante la producción de semilla.

También Cooper (1959), reporta que entre líneas de raigrás (S23), no existió un cambio apreciable en la variación de la fecha de emergencia de espiga. El cambio en la fecha de emergencia es asociado a la aparición de plantas precoces y a la desaparición de algunas tardías, ya que la fecha de cosecha debió de favorecer a las plantas de floración temprana. Además, se sabe que fecha de floración es un carácter de alta heredabilidad.

2.3.4. Estabilidad de S23 raigrás perenne en la multiplicación de semilla

Esta rápida respuesta a la selección artificial como se encontró en raigrás de Kent para obtener raigrás Irlandés (fuera del rango del genero parental y del rango usual de emergencia de espiga) luego de 4 generaciones de selección sugiere que, un cambio similar debe ocurrir dentro de una variedad de raigrases perennes durante la multiplicación por semilla del material fundación del criador. Una desviación hacia una temprana emergencia de espiga durante la multiplicación de la semilla, fue reportada por Griffiths (1951) para raigrás perenne de tipo S23. Mientras que Davies (1954) encontró un cambio ventajoso en fecha de emergencia de 11,3 días entre el primer y el sexto stock de generación de esta variedad. Muchos de estos avances ocurrieron mayormente entre la tercera y cuarta generación de multiplicación.

Los caracteres estudiados que son los más propicios a cambiar durante la acción selectiva de multiplicación por semilla y esos que pueden ser útiles para una rápida identificación de variedades de raigras en estado de semilla son: fecha de emergencia de espiga, requerimientos de frío para inducción floral, mediciones de hoja y macollaje en estadio vegetativo. El peso de 1000 semillas de cada muestra también fue estudiado para detectar alguna influencia en el peso de semilla en plantas jóvenes.

2.3.4.1. Fecha de emergencia de espiga

Trabajos previos en raigrás Irlandés y de Kent realizados por Cooper (1959) mostraron que la fecha de emergencia de espigas es altamente heredable y que la mayor parte de la variación entre las variedades era genética y aditiva respectivamente.

Fecha de emergencia de espigas responde rápidamente a la selección artificial y es esperado entonces que cambie durante la multiplicación de la semilla; las plantas de floración temprana dentro de la variedad contribuyen a esto particularmente si la cosecha es temprana.

En las primeras dos generaciones no existen diferencias significativas para fecha de emergencia de espigas, ya que la mayoría de los avances toman lugar entre la segunda y tercera generación, los subsecuentes stocks se mantienen bastante estables. Este cambio incluye un cambio en la distribución, con menos plantas tardías y más tempranas, pero la varianza no es apreciablemente alterada.

2.3.4.2. Requerimientos de frío

No se observaron cambios en los requerimientos de frío de las variedades durante su multiplicación, pero Cooper (1959) encontró una considerable variación genética en requerimientos de frío para raigrás Irlandés y de Kent.

2.3.4.3. Crecimiento temprano de plantas jóvenes

Las dimensiones de hojas sucesivas en el tallo principal de cada plantín y las hojas correspondientes de diferentes macollos, están cercanamente correlacionadas y ambos largo, ancho y área son fuertemente heredables.

Estudios previos llevados a cabo por Plantel (1958) muestran que existe una cercana correlación entre la proporción de aparición de hoja en diferentes macollos del mismo plantín; que la proporción de aparición de hojas es altamente heredable; y que puede responder rápidamente a la selección artificial.

No existe correlación entre peso de semilla y alguna de las medidas de plantines, esto sugiere que algún efecto en el peso de la semilla en estadios vegetativos tempranos han desaparecido para el estado de seis hojas.

A pesar de que existe una amplia variación genética en S23, los cambios en el crecimiento de plantines no son regulares durante la multiplicación y por ende no se pueden detectar. Es posible detectar variaciones en tamaño de hoja y en proporción de aparición de hojas pero solo para algunas variedades.

A pesar de que existe una considerable variación genética para todos los caracteres estudiados dentro de stocks de raigrás S23, cambios durante la multiplicación de la semilla ocurren solamente en una pequeña dimensión. Se detectó un cambio solamente en la emergencia temprana de espigas, y era solamente de 4,3 días en 5 generaciones. Parece no existir cambios en requerimientos de frío en los caracteres medidos en los plantines.

Es evidente que la mera existencia de variación genética en un stock, no necesariamente llevan a un cambio durante la multiplicación de la semilla. La ocurrencia de cambios depende de la dirección e intensidad de selección asociada a técnicas de multiplicación.

2.4. MANTENIMIENTO VARIETAL DE FORRAJERAS ALÓGAMAS

2.4.1. Raigrás

2.4.1.1. **Parámetros de campo (aspectos genéticos) según I.N.A.S.E. aprobados en el 2007**

Incluye categorías como

1. Rotación (Ciclos agrícolas sin cultivo de Raigras, *Dactylis*, *Festuca*, *Falaris* y *Festulolium*). Los niveles de tolerancia van desde 3 años de rotaciones para una semilla prebásica – básica y certificada 1 a 2 años para una certificada 2 y comercial A.
2. Aislamiento (metros). La siembra se realizara dejando un surco sin sembrar al medio de la sembradora para visualizar el raigrás espontáneo con mayor certeza. En materiales con distinto nivel de ploidía el aislamiento será de una distancia suficiente como para evitar mezclas físicas. Se podrá tener en cuenta otras opciones de aislamiento como: remoción de bordes, etc.
3. Plantas fuera de tipo por cada 10 m². El mejor momento para detectarlo es en el estado de embuche. Incluye solo una planta para semillas prebásica – básica y certificada 1, y 10 plantas para la certificada 2 y comercial A.
4. Numero mínimo de inspecciones. Como mínimo se debe de inspeccionar la chacra 1 vez de semillas prebásica, básica, certificada 1 y 2 y comercial A. En las inspecciones de campo se observara la presencia y frecuencia de otras especies de Raigrás, *Festuca*, *Falaris*, *Dactylis* y *Bromus* a fin de hacer las recomendaciones correspondientes.

2.4.1.2. Parámetros de Laboratorio (aspectos físicos y fisiológicos) según I.N.A.S.E. aprobados en el 2007

Incluye categorías como

1. % de semilla pura: 97 % de semilla pura en 6 grs. de semilla para todas las categorías de semillas.
2. % de materia inerte: 3 % de materiales inertes en 6 grs. de semilla para todas las categorías de semillas.
3. % de otras semillas: Tolerancia de 1 % para semillas prebásica-básica y certificada 1 y del 3 % para semilla certificada 2 y comercial 1 en 60 grs. De muestra. Se aceptara como máximo 0,5% de malezas totales para todas las categorías.
4. N° de semillas de malezas con tolerancia cada 60 grs. de muestra: 30 semillas son los niveles de tolerancia para todas las categorías de semilla.
5. % de germinación: 80 % de germinación para todas las categorías de semilla. En el caso de la semilla prebásica – básica, la comercialización con menor germinación podrá ser realizada con el conocimiento del usuario y la autorización del INASE.

Aspectos genéticos hace referencia a la pureza varietal. Los aspectos físicos incluyen lo que es pureza física teniendo en cuenta la materia inerte y presencia de otras semillas como ser malezas u otros cultivos. Y los aspectos fisiológicos tales como poder germinativo, viabilidad y vigor.

2.5. UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES (UPOV), TG/1/3

2.5.1. Introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales

2.5.1.1. El examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad (“examen DHE”)

Requisito del examen

El convenio de la UPOV (artículo 7.1) de las actas de 1961/1972 y 1978 y artículo 12 del acta de 1991, exige que una variedad sea examinada para ver si cumple los criterios relativos a la distinción, la homogeneidad y la estabilidad.

Características de los exámenes DHE

Las características del ensayo en cultivo u otros exámenes, en relación con aspectos como el número de ciclos de cultivo, la planificación del ensayo, el número de plantas que han de examinarse y el método de observación, quedan determinadas en gran medida por la naturaleza de la variedad que ha de examinarse.

Caracteres, la base del examen DHE

A lo largo de todas las Actas del Convenio de la UPOV ha quedado establecido que la variedad se define por medio de sus caracteres y que éstos últimos son por tanto la base sobre la que puede examinarse la variedad a los efectos de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad.

La variedad es un conjunto de plantas que puede definirse por la expresión de los caracteres resultantes de un cierto genotipo o de una cierta combinación de genotipos, y que puede distinguirse de cualquier otro conjunto de plantas por la expresión de uno de dichos caracteres por lo menos.

La distinción queda establecida cuando una variedad se distingue claramente por uno o varios caracteres importantes, se exige que la variedad sea estable en sus caracteres esenciales.

La homogeneidad se evaluará teniendo en cuenta que la variedad sea lo suficientemente uniforme en sus caracteres pertinentes. Se considerará estable la variedad si sus caracteres pertinentes se mantienen inalterados después de reproducciones o multiplicaciones sucesivas o, en caso de un ciclo particular de reproducciones o de multiplicaciones, al final de cada ciclo.

Factores que pueden influir en la expresión de los caracteres de la variedad

La expresión de uno o varios caracteres de la variedad puede estar influenciada por factores como las plagas y las enfermedades, el tratamiento químico (por ejemplo, los retardadores del crecimiento o pesticidas).

Se verá más adelante los caracteres principales utilizados (Descriptores).

2.5.1.2. Tipos de expresión de los caracteres

Caracteres cualitativos

Los caracteres cualitativos son los que se expresan en niveles discontinuos (por ejemplo, el sexo de la planta: dioico femenino (1), dioico masculino (2), monoico unisexual (3), monoico hermafrodita (4). Estos niveles de expresión se explican por sí mismos y tienen un significado independiente. Todos los niveles son necesarios para describir la gama completa del carácter, mientras que toda forma de expresión puede describirse mediante un único nivel. El orden de los niveles no es importante. Por regla general, los caracteres no son influenciados por el medio ambiente.

Caracteres cuantitativos

En los caracteres cuantitativos, la expresión abarca toda la gama de variaciones, de un extremo a otro. La expresión puede inscribirse en una escala unidimensional lineal continua o discontinua.

Caracteres pseudocualitativos

En el caso de los caracteres pseudocualitativos, la gama de expresión es, al menos parcialmente, continua pero varía en más de una dimensión (por ejemplo, la forma: oval (1), elíptica (2), redonda (3), oboval (4) y no puede describirse adecuadamente definiendo únicamente los extremos de una gama lineal.

2.5.2. “Exámen de la distinción”, documento tgp/9

2.5.2.1. Observación de los caracteres

Método de observación (visual o medición)

La expresión de los caracteres puede observarse visualmente (V) o mediante mediciones (M).

Observación visual (V)

La observación visual (V) es una observación basada en la opinión del experto. La observación visual comprende además las observaciones en las que el experto utiliza referencias (por ejemplo, diagramas, variedades ejemplo, comparación por pares) o gráficos no lineales (por ejemplo, cartas de colores).

Las observaciones visuales pueden utilizarse cuando satisfacen los requisitos del exámen DHE. Por lo general, son más rápidas y económicas que las mediciones.

Medición (M)

La medición (M) es una observación objetiva que se realiza frente a una escala lineal calibrada, por ejemplo, utilizando una regla, una báscula, un colorímetro, fechas, recuentos, etcétera.

Selección del método de observación

Al seleccionar el método de observación para la evaluación de la distinción deberán tenerse en cuenta los aspectos siguientes:

a) Tipo de expresión del carácter

Caracteres cualitativos (QL): los caracteres cualitativos se observan, por lo general, visualmente.

Caracteres cuantitativos (QN): los caracteres cuantitativos pueden medirse u observarse visualmente. En la Introducción General se explica que:

En casos en los que exista poca variabilidad dentro de cada variedad, la distinción se determina generalmente mediante la observación visual en lugar de emplear métodos estadísticos.

Tipo de registro (s)

G: registro único de una variedad o de un grupo de plantas o partes de plantas

S: registros de varias plantas o partes de plantas individuales

Ejemplo (MS)

Planta: altura natural en el raigrás (alógama): se miden 60 plantas (MS). El valor de cada planta se utiliza para calcular la media y la variación existente en las variedades a fin de evaluar la distinción.

Ejemplo (VS)

Planta: porte en el raigrás (alógama): se observan visualmente 60 plantas (VS). El valor de cada planta se utiliza para calcular la media y la variación existente en las variedades a fin de evaluar la distinción.

Métodos de examen de la homogeneidad

Cuando todas las plantas de una variedad son muy parecidas entre sí, y especialmente en el caso de las variedades de multiplicación vegetativa y las variedades

autógamas, es posible evaluar la homogeneidad mediante el número de plantas que resultan evidentemente diferentes, fuera de tipo.

No obstante, cuando la gama de la variación dentro de una variedad es más amplia, debido a las características de su reproducción o multiplicación y en particular en el caso de las variedades alógamas (incluidas las variedades sintéticas), no todas las plantas son muy parecidas y no es posible visualizar qué plantas deberían considerarse atípicas. En este caso puede evaluarse la homogeneidad examinando la gama general de la variación, observada a través de todas las plantas individuales, para evaluar si resulta similar a las variedades comparables.

Variedades alógamas

Generalmente, las variedades alógamas, las variedades principalmente alógamas y las variedades sintéticas presentan variaciones más amplias dentro de la variedad que las variedades de multiplicación vegetativa o las variedades autógamas y las variedades híbridas de líneas puras, por lo que es más difícil determinar las plantas atípicas. Por consiguiente, se establecen límites relativos de tolerancia respecto de la gama de la variación, en comparación con las variedades comparables o tipos ya conocidos. Por consiguiente, la homogeneidad de la variedad candidata no deberá ser significativamente menor que la de las variedades comparables.

2.5.2.2. Métodos de observación de los caracteres

Método basado en las plantas fuera de tipo

Como en el caso de la observación de los caracteres para examinar la distinción en general, los caracteres cualitativos y pseudocualitativos se observan visualmente y las

plantas fuera de tipo se determinan mediante el examen visual.

En algunos casos, se pueden efectuar mediciones de plantas individuales a fin de evaluar los caracteres cuantitativos de las plantas fuera de tipo.

Método de las desviaciones típicas

Como en el caso de la observación de los caracteres para determinar la distinción

- a) las observaciones visuales son generalmente más rápidas y baratas que las mediciones. Pero como se basan en el juicio de los expertos, exigen de manera especialmente importante una formación y una experiencia adecuadas para garantizar que las observaciones del examinador con respecto a un carácter sean concordantes y que pueda obtenerse la repetibilidad entre los observadores.
- b) las observaciones visuales son adecuadas si los datos satisfacen las condiciones necesarias para calcular la desviación típica y media.
- c) es posible que sea necesario efectuar mediciones para lograr la precisión adecuada en la evaluación de la variación.

2.5.3. Evaluación de la homogeneidad sobre la base de las plantas fuera de tipo

2.5.3.1. Determinación de las plantas fuera de tipo mediante el examen visual

Determinación de las plantas atípicas mediante el examen visual

Una planta se considerará atípica si puede distinguirse claramente de la variedad en la expresión de cualquier carácter de la totalidad o de una parte de la planta utilizada en

el exámen de la distinción, teniendo en cuenta las particularidades de su reproducción o multiplicación.

Causas de expresión atípica

Es importante diferenciar entre las causas genéticas de la expresión atípica en las plantas o partes de plantas, como la mutación y la polinización cruzada, y los factores externos, como el medio ambiente, las enfermedades y las prácticas culturales. Cuando la expresión atípica de una planta o de parte de una planta no tenga un fundamento genético, no debería considerarse que la planta sea fuera de tipo.

Expresión atípica en la totalidad de la planta

En los casos en que resulta evidente que la expresión atípica de una planta tiene un fundamento genético, y cuando la planta pueda distinguirse claramente de las plantas que conforman la variedad, teniendo en cuenta las particularidades de su reproducción o multiplicación, puede considerarse que se trata de una planta fuera de tipo.

2.5.4. Exámen de la estabilidad

La variedad se considerará estable “si sus caracteres pertinentes se mantienen inalterados después de reproducciones o multiplicaciones sucesivas o, en caso de un ciclo particular de reproducciones o de multiplicaciones, al final de cada ciclo”.

2.5.5. UPOV 2006. TG/4/8. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, homogeneidad y la estabilidad en *Lolium sp.*

El método recomendado para observar los caracteres se indica en la directriz mediante la siguiente clave:

MG: medición única de un grupo de plantas o partes de plantas.

MS: medición de varias plantas o partes de plantas individuales.

VG: evaluación visual mediante una única observación de un grupo de plantas o partes de plantas.

VS: evaluación visual mediante observación de varias plantas o partes de plantas individuales.

El tipo recomendado de parcela para observar los caracteres se indica también mediante la clave siguiente:

A: plantas aisladas

B: parcela en hilera

C: ensayo especial

2.5.5.1. Diseño del examen DHE de raigrás

Cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos 60 plantas aisladas, que deberán dividirse en al menos dos repeticiones.

Salvo indicación en contrario, todas las observaciones en plantas individuales deberán efectuarse en 60 plantas o partes de cada una de las 60 plantas, y cualquier otra observación se efectuará en todas las plantas del ensayo. En el caso de observaciones de partes tomadas de plantas individuales, el número de partes que deberán tomarse de cada una de las plantas, deberá ser de 1.

2.6. DESCRIPTORES

El término descriptor se refiere a cada uno de aquellos caracteres considerados importantes o útiles en la descripción de una población y que se utilizan tanto para los datos de pasaporte, caracterización y evaluación siendo distintos en cada caso. Es difícil la elección de caracteres para la caracterización de una especie, considerando que estos deben tener alta heredabilidad. Los descriptores varían con la especie y también varían según sean seleccionados por fitomejoradores, botánicos, genetistas o expertos o en otras disciplinas (Esquinas Alcázar, 1983).

El término descriptor se emplea cada vez con más frecuencia al referirse a cada uno de aquellos caracteres considerados importantes y/o útiles en la descripción de una población.

Los descriptores deben ser claros para quienes trabajan con un cultivo, teniendo en cuenta los diferentes usos de este, los diferentes objetivos de un mejoramiento y los diferentes métodos de medición para una cierta característica. Cada descriptor debe representar tan solo una característica y debe definirse el estadio de desarrollo en el cual se toma el dato (Querol, 1988).

Los requisitos citados por Symonts y Villagran (1988), que debe cumplir un descriptor son básicamente:

- 1- Alta heredabilidad
- 2- Alta repetibilidad
- 3- Fáciles de medir
- 4- Buena capacidad para discriminar entre poblaciones
- 5- Alta estabilidad
- 6- Poco variables

7- Valor agronómico

Por otra parte Querol (1988), define al descriptor como una característica o atributo que se observa en las accesiones, por ejemplo: altura de la planta, días a la floración, etc.

2.7. ANTECEDENTES AÑO 2006

Durante el otoño de 2006 se sembraron ensayos correspondientes a lotes fiscalizados de raigrás. El ensayo fue sembrado el 12 de mayo de 2006. Las parcelas fueron surcos de 5 metros separados entre si 60 centímetros con dos repeticiones. Incluyo un total de 44 lotes de los cuales solo se presentan datos de los 11 materiales que se utilizaron en esta tesis más el testigo.

Las características medidas fueron:

1. Altura de surco en estado vegetativo (5 medidas en cada surco).
2. Ancho de cobertura de surco en estado vegetativo (5 medidas en cada surco).
3. Relación entre altura y ancho de surco (índice de porte).
4. Porte visual (escala 1 a 9).
5. Intensidad de color verde de las hojas (escala 1 a 9).
6. Días desde siembra a 50% de floración.
7. Largo y ancho de hoja bandera (5 hojas por surco).
8. Altura de planta y largo de espiga totalmente expandida (3 medidas por surco).

Las características relevadas fueron seleccionadas de acuerdo a las “Directrices para la ejecución del examen de la distinción, homogeneidad y la estabilidad en Lolium” (TG/4/8, 2006).

Porte visual, color, altura y ancho de cobertura de surco fueron relevadas a los 111 días posteriores a la siembra. Mientras que las características altura de planta, largo de espiga, y ancho y largo de hoja bandera fueron relevadas al final del ciclo del cultivo.

Cuadro 1. Características medidas durante etapa vegetativa y reproductiva.

Lotes	Porte	Color	Altura	Días a 50% floración	Ancho hoja bandera	Largo hoja bandera	Fin de Floración	
							Altura	Largo espiga
Testigo	3	4	39,9	139	0,9	20	124,2	29,5
34	4	6	24,3	154	0,77	14,1	113,3	31
209	2	4	38,6	138	0,85	18	116,5	30,7
216	4	6	21,3	158	0,78	14,8	109,3	29,7
234	3	5	15,7	158	0,7	15,6	103	31,5
292	3	3	24,7	157	0,77	17,7	117,7	31,2
319	5	6	21,7	158	0,7	13,7	122	29,7
325	4	6	23	156	0,88	16	103,3	26
349	3	4	33,5	147	0,99	20,5	125	32,2
496	5	4	23,1	156	0,78	16,3	114,2	24,2
751	4	5	25,1	155	0,89	18	119,3	31,7
807	4	5	22,3	152	0,87	17	103,2	30,5
71	4	5	23,2	160	0,81	15,3	108,3	26,7

Fuente: adaptado de Olivieri (2006).

De los datos analizados se desprende que los lotes de Estanduela 284 presentan una amplia variación tanto en las medidas realizadas durante el periodo vegetativo como en las realizadas durante la fase reproductiva del cultivo. Si se observan los días transcurridos entre siembra y el 50% de floración, característica de gran valor a la hora de realizar comparación entre materiales, se ve que hubo una diferencia de 21 días entre el testigo de Estanduela 284 y el lote que floreció más tardíamente (Lote 71).

Se debe de tener en cuenta también la gran variación intrínseca que presenta el cultivar de Estanduela 284. Esta variación determina que bajo un manejo de pastoreo en

fechas tardías, las plantas de floración más tarde se verían favorecidas obteniendo mayor descendencia y aumentando su frecuencia en la población, determinando una floración más tardía que el testigo. Se debe aclarar que en dicho trabajo el testigo fue proporcionado por el mantenedor y que se produce en un esquema sin pastoreo, por lo cual no está sometido a la presión de selección que sí presentan los materiales comerciales. Esta deriva puede darse en forma tan rápida como dos o tres generaciones (García, 1998) la variación que se observó en el ensayo pueden atribuirse en su mayor parte a esta causa.

Olivieri et al. (2006), observó que lotes cuyos días a floración fueron 150 días o menos fueron los más parecidos al testigo para todas las características evaluadas en el ciclo del cultivo. Fueron similares en hábito de crecimiento, color, altura de planta al final del ciclo y largo y ancho de la hoja bandera.

En conclusión, a medida que los días necesarios para llegar al 50% de floración aumentan, los materiales tienen un hábito de crecimiento más postrado, menor altura de planta, menor largo de hoja bandera y un color verde más intenso. Por el contrario, el largo de espiga y el ancho de la hoja bandera no parecen verse afectados por la diferencia en el ciclo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL EXPERIMENTAL

3.1.1. Ubicación espacial y temporal del experimento

Este experimento, fue realizado en el Instituto Nacional De Semillas (I.N.A.S.E.), sede central ubicada en Pando, departamento de Canelones. Dicha unidad se ubica sobre Ruta Nacional N°.8, km. 29. Latitud: 34° 43'51. 69'' S; Longitud: 55° 58'34. 15'' W; Altura: 19 metros. El trabajo fue llevado a cabo en el período comprendido entre mayo de 2007 y marzo de 2008.

3.1.2 Precipitaciones

Para el período experimental, acorde con las mediciones diarias obtenidas en la unidad central de INASE, el registro pluviométrico promedio fue superior al promedio histórico de la Estación Meteorológica de Carrasco.

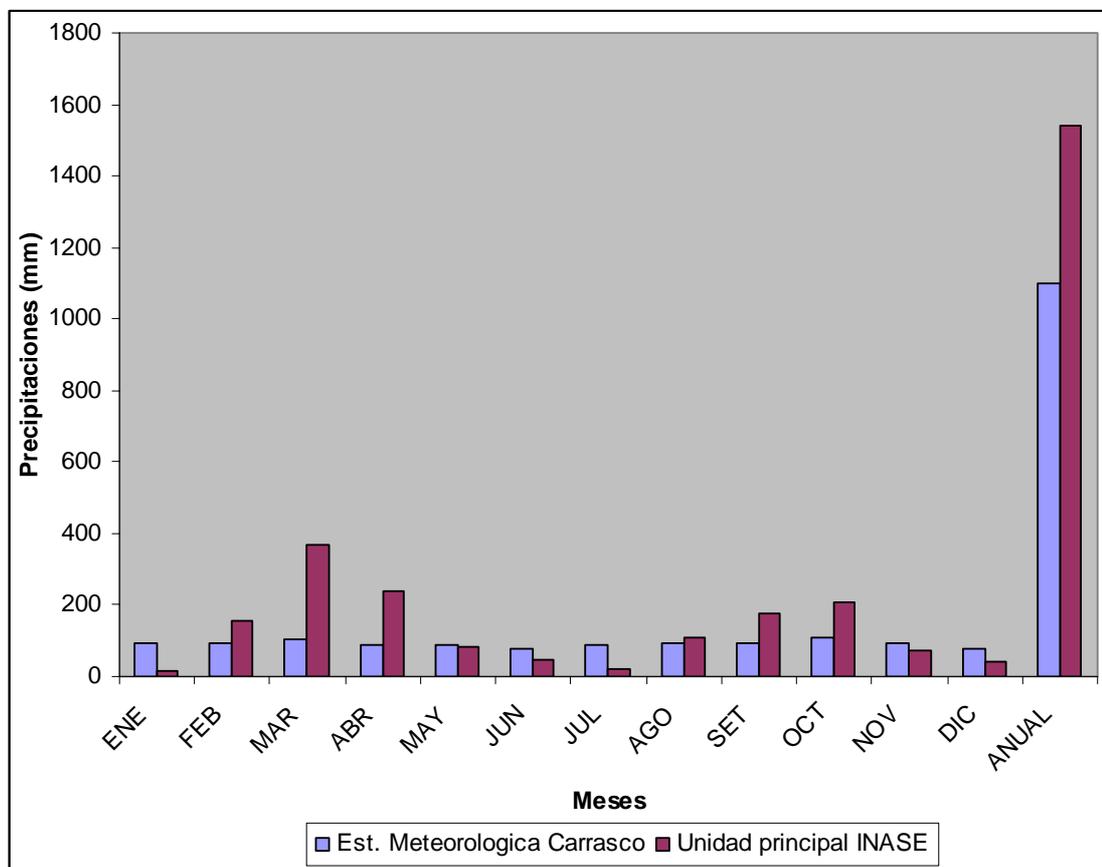


Figura 1. Total de precipitaciones mensuales durante enero - diciembre de 2007

Promedio de precipitaciones del período en INASE (128 mm).

Promedio histórico Carrasco para el período de evaluación (91,6 mm).

Entre los meses de julio y diciembre tiene lugar el ensayo de campo.

3.1.3 Suelo

La unidad de suelos predominante es San Carlos, el campo experimental incluye el 100 % del grupo CONEAT 4.2. Esta unidad presenta un relieve fuertemente ondulado con 4-8% de pendiente. Los suelos dominantes son Argisoles Subéutricos Ócricos, de texturas francas, profundos, de drenaje moderadamente bueno a imperfecto y fertilidad

media a baja. El material madre esta constituido por sedimentos limo arcillosos de poco espesor que recubren el Basamento Cristalino alterado. En cuanto a la historia del suelo utilizado para el ensayo: en el verano 2006/2007 había sembrado *Setaria itálica* y anteriormente había una cobertura de *Trifolium alejandrinum*, ambos utilizados como abonos verdes.

3.2. MATERIAL GENÉTICO

Se evaluaron 11 materiales de *Lolium multiflorum* pertenecientes a muestras tomadas en el año 2006 en diferentes empresas comerciales, las cuales se encontraban a la venta como semilla comercial del cultivar Estanzuela 284. De esta manera se cuenta con 11 tratamientos más un testigo de semilla certificada de este cultivar, origen INIA La Estanzuela, ver cuadro 1 en anexos.

3.3. MÉTODOS DE CAMPO

Para este ensayo fueron realizadas dos fechas de siembra, la primera correspondió a la siembra de almacigueras el día 16 de abril del año 2007, y la segunda el día 3 de mayo del mismo año. Para esta última siembra se utilizó una sembradora experimental en directa con mínimo laboreo, el cual se perdió por exceso hídrico y compactación quedando restringido el ensayo únicamente a plantas aisladas.

En cuanto al manejo, durante la siembra de almacigueras se aplicó un fungicida contra dumping off, de nombre comercial Previcur, principio activo propano-carb a razón de 20 cm³ cada 10 litros de agua. Estas plantas, quedaron en condiciones de invernáculo a temperatura media diaria según el mes: abril (21,6 °C), mayo (17,1 °C), junio (15,7 °C) y julio (15,4 °C). Con respecto a las frecuencias de riego, este se realizó todos los días de la siguiente manera: día uno, (agua + fósforo), día dos (agua +

nitrógeno) y día tres (agua sola), y así sucesivamente. El día 2 de mayo fueron raleadas las almacigueras seleccionando los plantines más aptos para continuar su ciclo.

Las plantas aisladas fueron transplantadas el día 4 de julio. Se transplantaron 60 plantas de cada material, distribuidas en dos repeticiones de 30 cada una. Las hileras a una distancia de 0,80 metros entre si, y las plantas a razón de 0,40 metros entre si. Se dejó un camino de un metro entre ambas repeticiones. Se debe mencionar el efecto depresivo sufrido por el cambio de plantas de invernáculo a condiciones de campo, lo cual llevó un período de acostumbamiento con un posterior crecimiento.

La fertilización se realizó el día 20 de julio junto con el riego a razón de 10 gramos de urea cada 10 litros de agua.

El día 24 de julio se efectuó corte manual con tijera para promover el macollaje, logrando una altura promedio por planta de 15 centímetros y fueron repuestas las plantas afectadas tanto por heladas como por falta de agua.

Refertilización con urea el día 20 de setiembre a razón de 2 gramos por planta.

Para el control de malezas se utilizó Metsulfuron metil a razón de 1 gramo cada 17 litros en el momento de siembra en el campo, previo al transplante de plantas aisladas. El 19 noviembre se aplicó, contra ataque de pulgón, Endosulfan al 33 % con mochila manual a razón de 18 cm³ cada 10 litros de agua. En el caso de manchas foliares y roya de la hoja no se hicieron aplicaciones para registrar susceptibilidad.

La cosecha de semilla fue llevada a cabo, de forma manual y dependiendo de cada material, en los meses de noviembre y diciembre. Dicho momento fue determinado cuando se observó una madurez homogénea para todas las plantas y una mínimo desgrane.

En los meses de enero y febrero de 2008 se realizó la trilla manual y posterior limpieza de semilla utilizando una maquina experimental de doble zaranda modelo “Clipper”.

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Siguiendo el protocolo exigido por UPOV, el diseño experimental fue de bloques completos al azar con dos repeticiones.

El tipo de parcela utilizado para observar los caracteres del material, por planta individual, es de plantas aisladas, ver cuadro 2 y figuras 1 y 2 en anexos.

Fueron evaluados 12 tratamientos (11 lotes más 1 testigo), cada tratamiento fue estudiado a nivel de planta. Cabe aclarar que se trata de 60 plantas para cada tratamiento en las que se llevaron a cabo las observaciones.

3.5. VARIABLES OBSERVADAS

Los diferentes materiales se caracterizaron en las etapas vegetativa y reproductiva, donde se efectuaron 14 determinaciones de características cuantitativas y 6 cualitativas.

3.5.1. Características medidas en la etapa vegetativa

Altura, porte y diámetro de la planta se midieron el día 10 de setiembre, a 149 días de sembradas. Para el caso de altura y diámetro de la planta, las mismas fueron tomadas con regla milimetrada, tomando como la altura de la planta la máxima observada desde su base a nivel del suelo hasta el punto extremo de la hoja superior extendida. Se midió dos veces el diámetro tomando las medidas de forma perpendicular en el punto de quiebre de las hojas (para calcular un promedio), ambas medidas realizadas en

centímetros. Para el caso del porte, ver cuadro 3 y figuras 3 y 4 en anexos, se tuvo en cuenta esta escala:

- 1- erecto,
- 2- semi-erecto,
- 3- intermedio,
- 4- semi-postrado,
- 5- postrado.

ii. Color y vigor de la planta se midieron el día 20 de setiembre, a 157 días de sembradas. Para el caso del color de la planta se utilizó una escala subjetiva según el observador, ver cuadro 3 en anexos.

- 1- verde muy claro,
- 2- verde claro,
- 3- verde intermedio,
- 4- verde oscuro,
- 5- verde muy oscuro.

Para vigor se tuvo en cuenta una escala que iba de planta muy grande a planta muy chica, ver cuadro 3 y figuras 10, 11, 12, 13 y 14 en anexos.

- 1- muy grande,
- 2- grande,
- 3- media,
- 4- chica,
- 5- muy chica.

iii. Largo y ancho de hoja pre-bandera. Estas se realizaron utilizando regla milimetrada, los valores se registraron en centímetros y milímetros, respectivamente. Se tomo la hoja más larga de la planta a simple vista y el ancho

mayor de ésta. La fecha de esta medición fue el 21 de setiembre, 158 días pos-siembra.

iv. Macollaje. Se determinó el 25 de setiembre, 162 días pos siembra. Se usó una escala subjetiva según el observador establecida una vez recorrido el ensayo antes de comenzar a medir, ver cuadro 3 y figuras 5, 6, 7, 8 y 9 en anexos. La escala utilizada fue:

- 1- muy alto,
- 2- alto,
- 3- medio,
- 4- bajo,
- 5- muy bajo.

v. Largo y ancho de hoja bandera (para calcular la relación L/A de ésta). Estas se realizaron utilizando regla milimétrica, los valores se registraron en centímetros y milímetros respectivamente. Se tomó la hoja bandera más larga a simple vista, y la parte más ancha de esta. La medición fue realizada el día 12 de octubre, a 179 días pos siembra .La relación L/A de la hoja bandera se calculó mediante la división del largo y ancho de la hoja.

vi. Distancia entre el último nudo del tallo y la base de la espiga. Se realizó la determinación el día 15 de octubre, 182 días pos siembra utilizando una regla milimétrica.

3.5.2. Características medidas en la etapa reproductiva

i. Altura y porte de la planta. Estas mediciones se realizaron el día 8 de noviembre, 206 días pos siembra. Se tomó la altura total de la misma, cuando esta ya presentaba la espiga desarrollada, midiendo con regla milimétrica desde la base

de la planta a nivel del suelo hasta la última espiguilla. Para el caso del porte se tuvo en cuenta la misma escala utilizada en la determinación en estado vegetativo.

- ii. Largo de espiga y número de espiguillas por espiga. Para el largo de espiga se utilizó regla milimétrica y al mismo tiempo se contó el número de espiguillas en ella. Las mediciones se realizaron entre el día 15 y 19 de noviembre.
- iii. Días a floración. Se realizó durante los meses de octubre y noviembre. En el momento que la planta llegaba a tres espigas visibles (floración), se procedía a medir la cantidad de días entre la siembra de la planta y el día que florecía.
- iv. Lectura subjetiva de la susceptibilidad a roya de la hoja (*Puccinia coronata*). Durante las recorridas en los meses de noviembre y diciembre se constataban las infecciones de roya. Para esto, se utilizó una escala subjetiva que demostrara el porcentaje de área afectada por la enfermedad así como la reacción de susceptibilidad, ver cuadro en anexos. Dicha escala fue:
 - 1- susceptibilidad nula,
 - 2- susceptibilidad baja,
 - 3- susceptibilidad media,
 - 4- susceptibilidad alta.

3.5.3. Mediciones de tipo cuantitativo realizadas luego de la cosecha

Para estas medidas se hizo una selección aleatoria de 10 plantas por cada tratamiento, ver cuadro 4 en anexos.

- i. Rendimiento por planta. Se procedió a trillar a mano cada planta y luego se realizó la limpieza de la semilla con un equipo experimental (separación de

semillas vanas, tierra y otras semillas, de semillas viables). Por último se pesó con una balanza de precisión la cantidad de semillas obtenidas por cada planta. Los valores se registraron en gramos. Las mediciones se realizaron durante el mes de enero.

- ii. Peso de 1000 semillas. Fueron seleccionadas aquellas semillas con endosperma visible que ocupara más de la mitad de ella. Se realizaron dos repeticiones de 100 semillas, se pesaron en balanza de precisión y se obtuvo un promedio, el cual fue multiplicado por factor 10. Los valores se registraron en gramos. Las mediciones se realizaron entre los días 25 y 29 de febrero.

En última instancia se procedió con el análisis denominado Citometría de Flujo, el cual fue realizado en el Laboratorio Clemente Estable. Con él se obtuvo el porcentaje de contaminación de semillas tetraploides en el material 216, el cual en el ensayo a simple vista manifestaba características atribuibles a un material tetraploide.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de este experimento fue realizado utilizando el programa de estadística SAS.

3.6.1. Variables de distribución aproximadamente normal

Altura en estado vegetativo (Altv.),

Diámetro de planta (Diam.),

Largo de hoja (LH),

Ancho de hoja (AH),

Largo de hoja bandera (LHB),

Ancho de hoja bandera (AHB),

Relación largo/ancho de hoja bandera (RLA),
Distancia entre el último nudo y la base de la espiga (NE),
Altura en estado reproductivo (Altr.),
Largo de espiga (LE),
Número de espiguillas por espiga (ESP*E),
Días a floración (Daf.),
Peso de mil semillas (PMS),
Rendimiento por planta (Rend.),
fueron analizadas siguiendo el modelo de Análisis de Varianza en bloque con submuestreo.

Diseño en Bloques al Azar con 2 repeticiones y 12 tratamientos

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \tau_j + \delta_{k(ij)} + \epsilon_{ijk}$$

donde:

Y_{ij} son las variables estudiadas con distribución aproximadamente normal.

μ es el efecto promedio general.

β_i es el efecto del i ésimo bloque.

τ_j es el efecto del j ésimo tratamiento.

$\delta_{k(ij)}$ es el error de muestreo.

ϵ_{ijk} es el error experimental.

3.6.2. Variables de ranking

Porte en estado vegetativo (Pv.),

Color (COL),

Vigor (Vi.),

Macollaje (MAC),
Porte en estado reproductivo (Pr.),
Susceptibilidad a Roya (SR),
se utilizo el Modelo Lineal Generalizado:

$$\delta(p) = \beta_0 + \tau_i$$

donde ajustamos una función al valor de probabilidad estimado de cada valor del ranking, donde:

$$\delta(\hat{p}_i) = \beta_0 + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

donde:

δ es la función “link” para distribuciones multinomiales que en este caso es Logic Acumulada.

β_0 es el intercepto.

τ_i es el efecto del i ésimo cultivar.

ϵ_{ij} es el error experimental.

Cabe destacar que la variable color fue considerada de ranking por ser medida en una escala de verdes.

3.6.3. Otras descripciones

Univariada → Boxplot.

Multivariada → Componentes Principales para las variables cuantitativas, utilizándose como medida de distancia el coeficiente de correlación lineal de Pearson,

estudiándose los dos primeros componentes. Para identificar las variables que contribuyeron más a la diferenciación de grupos, se realizó un análisis discriminante, utilizándose los métodos de selección de variables Stepwise y Forward.

→ Coordenadas Principales para todas las variables, para ver si los grupos son diferentes cuando son incluidas las variables cualitativas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Aquí se analizarán las variables cuantitativas utilizándose los test de Tukey y de Dunnett. Y también se verá la descripción univariada, boxplot, de las variables, ver figuras 15 a 25 inclusive en anexos.

Cuadro 2. Variable altura en estado vegetativo (cm.)

Lote	Altv
Test	20,050 a
209	18,217 ab
349	16,898 abc
807	15,102 bc
751	14,847 bcd
325	14,567 bcd
496	13,950 bcd
216	13,183 cd
34	12,881 cd
234	12,717 cd
292	12,650 cd
319	10,333 d
Media	14,616
CV	43,098
P>F	0,0002
MDS (Tukey)	4,6591

Existen diferencias significativas entre los distintos lotes de plantas para altura en estado vegetativo. Con una mínima diferencia significativa de 4,6591, no se puede inferir que el testigo difiere de los lotes 209 y 349 respectivamente, pero si de los restantes.

Al utilizar el test de Dunnett en esta variable, se obtuvo el mismo resultado. Cabe destacar que en este caso el valor crítico de Dunnett fue de 3,26913. Ver cuadro 5 en anexos.

Como se hará alusión en el siguiente párrafo, en el caso de la altura en estado reproductivo, ésta característica no presenta diferencias significativas. O sea que existe un crecimiento compensatorio de las plantas de menor altura al pasar de estado vegetativo a reproductivo. Esto se puede afirmar debido a que esta diferencia en crecimiento no esta dada por el largo de espigas, ya que tampoco presentó diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 3. Variable rendimiento (gr.)

Lote	Rend.
496	32,206 a
807	30,710 a
751	29,628 a
Test	28,996 a
325	28,875 a
234	27,570 a
292	27,335 a
216	23,966 a
319	21,376 a
209	20,575 a
349	18,053 a
34	15,191 a
Media	25,373
CV	79,657
P>F	0,2744
MDS (Tukey)	25,819

Para esta característica, así como también para diámetro de planta, altura en estado reproductivo, largo de espiga y número de espiguillas por espiga. Ver cuadros 6, 7, 8 y 9 en anexos, vemos que ninguna de las diferencias entre las medias de los tratamientos supera las DMS de los Tukey. O sea no existen diferencias significativas entre los lotes

de semillas. Para estas características, lo mismo fue encontrado con el test de Dunnett, ya que tampoco se aprecian diferencias estadísticas entre los lotes Ver cuadros 10, 11, 12, 13 y 14 en anexos.

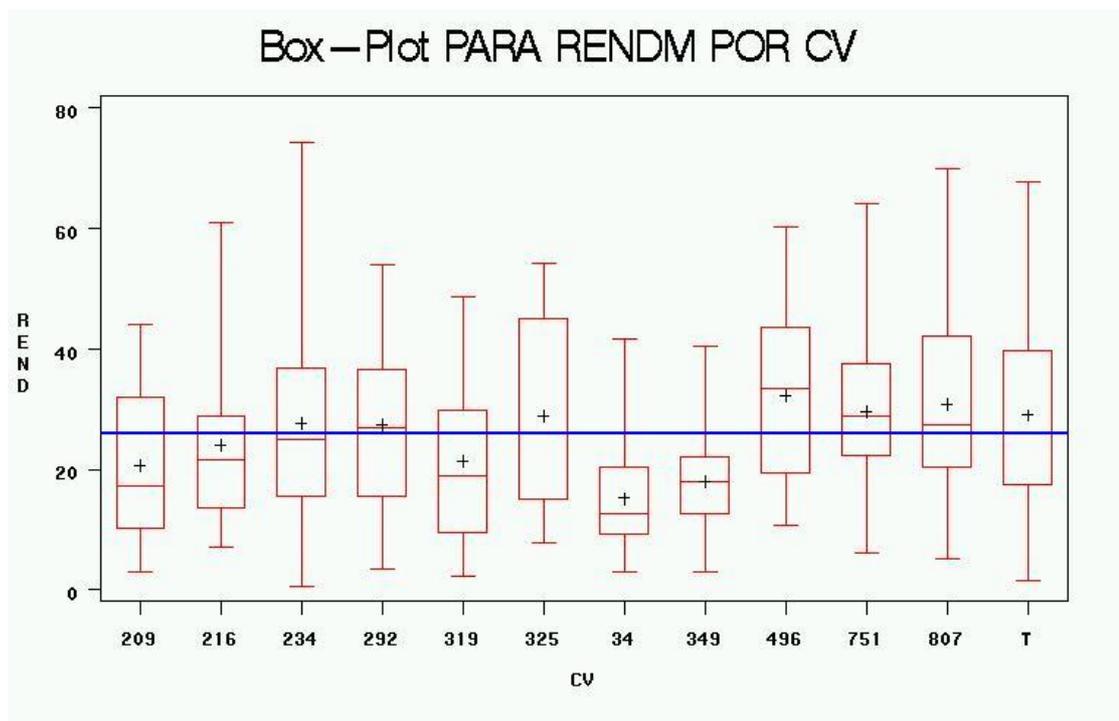


Figura 2. Rendimiento medio, mediana, máx., min., cuartil 1 y 3 por lote y media general

En el caso de rendimiento por planta, como ya fue mencionado, si bien no existen diferencias estadísticamente significativas entre lotes, vemos la gran variabilidad existente dentro de cada lote de semilla.

Esto puede ser debido a la característica de las plantas, ya que se observaron casos particulares de plantas muy pequeñas que solo tenían una espiga y otras grandes con gran cantidad de espigas en un mismo lote. A modo de ejemplo en el lote 319 del bloque I se reportó un rendimiento máximo de 44,97gr. y un mínimo de 5,93 gr.; o para el

testigo en el bloque II, rendimientos de 53,18 gr. y 1,50 gr. Respectivamente. Ver cuadro 4 en anexos.

Cabe destacar las condiciones climáticas que soportaron estas plantas, ya que no solamente las heladas de invierno causaron la muerte de algunas. Sino también el exceso de lluvia en el período de siembra y la sequía que determinó el riego de la parcela.

Esto concuerda con lo encontrado por Knowles y Christie (1972), donde las diferencias en rendimiento de semilla fueron atribuidas a las condiciones ambientales locales, factores de manejo y enfermedades.

Cuadro 4. Variable largo de hoja (cm.)

Lote	LH
Test	23,265 a
496	18,800 ab
209	18,522 ab
751	17,420 ab
807	17,363 ab
216	16,675 ab
349	16,620 ab
325	16,337 ab
234	16,180 ab
292	15,747 ab
34	12,783 b
319	11,918 b
Media	16,803
CV	69,834
P>F	0,0222
MDS (Tukey)	8,6785

Para la característica largo de hoja, así como también para distancia entre el último nudo y la base de la espiga, ver cuadro 14 en anexos, vemos que existen diferencias significativas entre el testigo y los lotes 34 y 319 respectivamente.

Al realizar el test de Dunnett para las mismas variables, los resultados obtenidos no coinciden, por esto se presentan ambos cuadros.

Cuadro 5. Diferencia de medias de largo de hoja (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
496-T	-4,465	
209-T	-4,743	
751-T	-5,845	
807-T	-5,902	
216-T	-6,590	
349-T	-6,645	
325-T	-6,928	
234-T	-7,085	***
292-T	-7,518	***
34-T	-10,482	***
319-T	-11,347	***
VCDunnett	3,26913	

*** difiere significativamente con el testigo con 95 % de confianza

Como se puede ver en el cuadro 5, para el caso de la variable LH existen siete lotes que no presentan diferencias significativas con el testigo. A diferencia de Tukey, los lotes 234 y 292 también son significativamente diferentes al testigo. Esto se explica por el valor crítico de Dunnett que es más exigente. También resaltan los lotes 496 y 209 como los de menor diferencia. En todos los casos los valores son negativos o sea que todos los lotes tienen un menor largo de hoja respecto al testigo.

Para la variable NE, ver cuadros 15 y 16 en anexos, no coinciden los resultados de Dunnett en un 100% ya que los lotes 216, 234 y 325 también difieren estadísticamente del testigo. Lo cual puede estar influenciado también por el valor crítico que utiliza el test. Además, se repite que el lote 319 es el más diferente al testigo, así como la menor diferencia se da con los lotes 751 y 209 respectivamente. El valor de media de la variable también es negativo.

Cuadro 6. Variable ancho de hoja (cm.)

Lote	AH
Test	0,83250 a
209	0,72667 ab
496	0,68917 ab
349	0,67712 abc
807	0,67542 abc
751	0,66780 bc
216	0,66000 bc
325	0,63167 bc
292	0,63083 bc
234	0,59833 bc
34	0,57712 bc
319	0,53083 c
Media	0,658
CV	32,473
P>F	0,001
MDS (Tukey)	0,1581

Existen diferencias significativas entre el testigo y los lotes 751,216, 325, 292, 234, 34 y 319 para la característica ancho de hoja. Al compararlo con el test de Dunnett vemos que el único lote que no presenta diferencias significativas entre su media y la del testigo es el 209. Cabe destacar que el valor de coeficiente utilizado es 3,26913. Ver cuadro 17 en anexos

Cuadro 7. Variable largo de hoja bandera (cm.)

Lote	LHB
Test	20,922 a
751	19,386 ab
807	17,895 abc
209	17,598 abc
496	16,308 abcd
292	16,297 abcd
349	15,947 abcd
325	15,763 abcd
216	15,276 bcd
234	13,486 cd
34	12,905 cd
319	11,945 d
Media	16,144
CV	45,625
P>F	0,0013
MDS (Tukey)	5,4671

Para la variable largo de hoja bandera, el lote testigo difiere significativamente de los lotes 216, 234, 34 y 319.

Cuadro 8. Diferencia de medias en largo de hoja bandera (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
751-T	-1,535	
807-T	-3,027	
209-T	-3,323	
496-T	-4,613	***
292-T	-4,625	***
349-T	-4,974	***
325-T	-5,158	***
216-T	-5,645	***
234-T	-7,435	***
34-T	-8,016	***
319-T	-8,977	***
VC Dunnnett	3,27049	

*** difiere significativamente con el testigo con 95 % de confianza

Esta variable presenta a su vez diferencias negativas en Dunnett con respecto al testigo. En este caso, aparte de los mencionados en el cuadro anterior, también difieren significativamente del testigo los lotes 496, 292, 349 y 325. El lote 751, 807 y 209 no se diferencian significativamente con el testigo.

Cuadro 9. Variable ancho de hoja bandera (cm.)

Lote	AHB
Test	0,93583 a
751	0,91271 ab
496	0,85917 abc
807	0,85678 abc
216	0,84576 abc
209	0,82667 abc
325	0,80000 abcd
349	0,78305 bcd
292	0,77333 bcd
34	0,75690 cd
234	0,75000 cd
319	0,66121 d
Media	0,813
CV	23,296
P>F	0,0004
MDS (Tukey)	0,1407

Existen diferencias estadísticas para la característica ancho de hoja entre el testigo y los lotes 349, 292, 34, 234 y 319 respectivamente.

Cuadro 10. Diferencia de medias en ancho de hoja bandera (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
751-T	-0,02312	
496-T	-0,07667	
807-T	-0,07905	
216-T	0,09007	
209-T	0,10917	
325-T	-0,13583	***
349-T	-0,15278	***
292-T	-0,16250	***
34-T	-0,17894	***
234-T	-0,18583	***
319-T	-0,27463	***
VCDunnett	3,27049	

*** difiere significativamente con el testigo con 95 % de confianza

Aquí vemos que la única diferencia con el test de Tukey es que el lote 325 también presenta diferencias significativas con el testigo. Estas diferencias también son negativas o sea los lotes presentan menor ancho que el testigo. Como ya se dijo anteriormente podemos hacer alusión a las distintas exigencias de ambos test, ya que Dunnett es más exigente que Tukey.

Cabe destacar que para estas cuatro variables de hoja observadas, el lote 319 es el más diferente al testigo.

Cuadro 11. Variable relación largo- ancho de hoja (cm.)

Lote	RLA
Test	22,453 a
751	21,675 ab
209	21,542 ab
292	21,248 ab
807	21,032 ab
349	20,422 ab
325	19,925 ab
496	19,067 ab
319	18,053 ab
216	17,985 ab
234	17,907 ab
34	17,019 b
Media	19,861
CV	34,842
P>F	0,0154
MDS (Tukey)	5,1362

Para la relación largo/ancho de hoja solamente se ven diferencias significativas para el lote 34.

Cuadro 12. Diferencia de medias en relación largo- ancho de hoja (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
751-T	-0,778	
209-T	-0,912	
292-T	-1,206	
807-T	-1,421	
349-T	-2,031	
325-T	-2,528	
496-T	-3,387	
319-T	-4,400	***
216-T	-4,469	***
234-T	-4,547	***
34-T	-5,434	***
VCDunnett	3,27049	

*** difiere significativamente con el testigo con 95 % de confianza

La variable RLA también demuestra lo visto anteriormente, por lo tanto los valores con respecto al testigo son negativos, y existen lotes como el 319, 34 y 234 que siguen siendo diferentes significativamente al testigo. Y con respecto al test de Tukey, aquí los lotes 319, 216 y 234 también son significativamente diferentes.

Para las cinco características de tamaño de hoja anteriormente mencionadas podemos hacer referencia a lo estudiado por Cooper (1959), quién detectó diferencias tanto en ello como en la proporción de aparición de hojas durante el crecimiento de plantas de diferentes variedades de raigrás.

Cuadro 13. Variable días a floración (días)

Lote	Daf.
216	203,475 a
319	201,088 ab
234	199,068 abc
325	197,933 abcd
34	197,404 abcd
496	195,300 bcde
751	193,864 cde
292	192,467 de
807	190,424 ef
349	184,190 fg
209	182,033 g
Test	181,733 g
Media	193,248
CV	4,357
P>F	<,0001
MDS (Tukey)	6,2638

En días a floración existe una gran variabilidad, para Tukey tomando una MDS de seis días, vemos que el testigo difirió estadísticamente de todos los lotes menos del 209 y 349. Esto es ratificado en el test de Dunnett pero con un VC de tres días, ya que estos dos lotes también son los únicos que no presentaron diferencias significativas contra el testigo. Dicha variable es la única que se diferencia con valores positivos.

Además puede verse que los primeros cinco lotes del cuadro no presentaron diferencias estadísticas. Entonces, se podría dividir los lotes en dos grupos los “a” o tardíos y los “g” o precoces, que estarían diferenciadas por 13 días entre si.

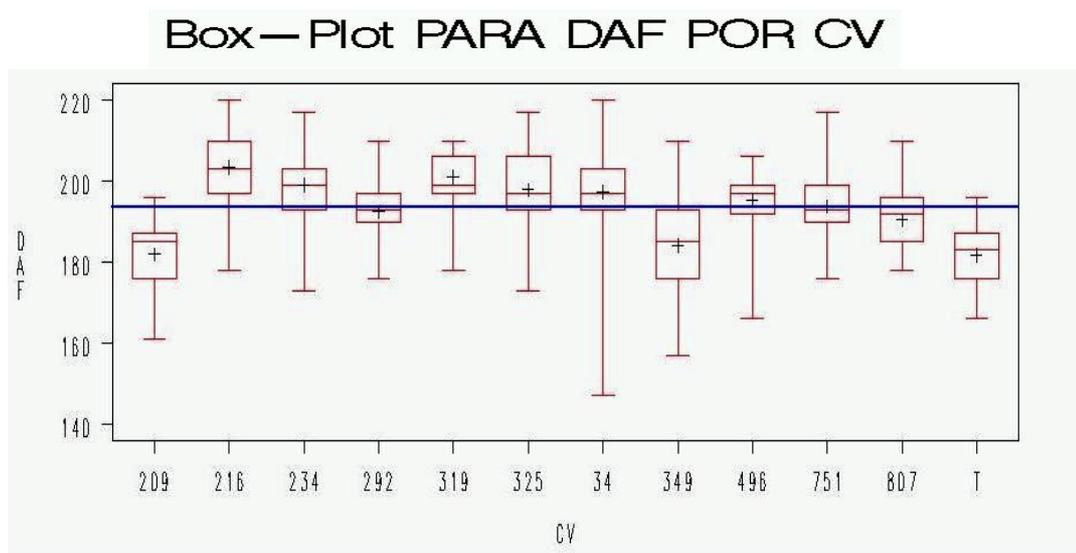


Figura 3. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de DAF

Si bien la media para que un lote de raigrás tarde en florecer es de 193 días, con un coeficiente de variación de 4 días, en la gráfica podemos ver la gran variabilidad existente dentro de los lotes. Esto quiere decir que dentro de cada lote las plantas no florecen todas juntas, sino que abarcan hasta períodos mayores a los encontrados entre lotes.

Una desviación hacia una temprana emergencia de espiga durante la multiplicación de la semilla, fue reportada por Griffiths (1951) para raigrás perenne de tipo S23; mientras que Davies (1954) encontró un cambio ventajoso en fecha de emergencia de 11,3 días entre el primer y el sexto stock de generación de esta variedad. Muchos de estos avances ocurrieron mayormente entre la tercera y cuarta generación de

multiplicación. Además se sabe que ésta es una de las características más útiles para una rápida identificación de variedades de raigrás ya que si bien es un carácter de alta heredabilidad, es propicia a cambiar durante la multiplicación de la semilla.

Cabe destacar que el período de floración de los lotes abarco 21 días, ya que el primer lote en florecer fue el testigo (181 días) y el último, o sea el más tardío fue el lote 216 (203 días). Este lote presenta una contaminación de 19,9% con semilla tetraploide, por lo que de acuerdo a sus características típicas de los materiales 4n, ver figura 26 en anexos, reafirma su comportamiento en la floración.

A su vez el lote 209 es el que menos difiere del testigo, dicha diferencia es de 0,3 días en ambos tests. Parece que este lote presenta gran similitud al testigo Estanduela 284 en cuanto a varios aspectos de ciclo.

Dentro de los lotes se encontraron diferencias de hasta casi 70 días como ocurre en el 34. Esto es una gran diferencia desde el punto de vista productivo, debido a que una especie alógama con un período de floración mayor a dos meses, no solamente tendería a ser más vulnerable a la selección natural y artificial, sino también a la rápida pérdida de identidad e imposibilidad de manejo y caracterización.

Sabemos según Beard (1952), que al multiplicar una variedad, su diversidad genética hace difícil su constancia genética. Kalton (1996) afirma que en las forrajeras perennes de polinización abierta, cuanto más larga sea la floración, esta puede causar cambios en la frecuencia de genotipos particulares en un cultivar. A modo de ejemplo, genotipos tempranos tienden a cruzarse con otros genotipos tempranos, entonces si se realiza cosecha temprana para evitar pérdida de semillas, se logra indirectamente eliminar los genotipos tardíos.

A la hora de definir un cultivar Kelly y Boyd (1966) lo hacen como una particular combinación de plantas, y que su utilización va a depender de la reacción de dichas

plantas a un ambiente dado. Pero sabemos que la influencia del ambiente en la estabilidad de características varietales es importante (Valle 1960, Zaleski 1962, Garrison 1964). Así como también la presión de enfermedades son causas de ocurrencia de cambio genético (Kalton et al., 1996).

De acuerdo con Kalton (1996) para mantener la integridad del cultivar se deben de limitar el número de generaciones en la multiplicación, esto es también afirmado por Kelly y Boyd (1966). En el avance generacional se encontraron cambios cada vez más acentuados en la frecuencia genotípica, esto derivó en plantas más altas y tempranas. Al no disponer de los datos del origen de la semilla, no sabemos a que generación pertenece cada lote. Pero si confirmamos que el grupo de plantas “g” catalogado como precoz, presenta la mayor altura en estado vegetativo y difiere estadísticamente del resto de los lotes.

Las plantas de maduración tardía tienden a florecer durante un período de tiempo mayor que las plantas tempranas, por lo tanto menos polen es disponible, existe mayor aborto de semillas y esta es menos uniforme (Kalton, 1996). Esto coincide con lo encontrado en el experimento ya que las plantas del grupo “a” o tardías (lotes, 216, 319, 234, 325 y 34) presentan una tendencia de floraciones más largas que las del grupo “g” o precoces.

Cuando se multiplica semilla, manejándola correctamente y utilizando un límite en el número de generaciones permitidas a partir de la semilla básica, las características de la población obtenida generalmente son similares a las que son criadas directamente de la semilla original, (Bula et al.1964, Bula et al.1965, Nelly y Boyd 1966, Simon et al. 1979). Pero en este caso la población obtenida es muy variante, teniendo en cuenta de que se trata de plantas de un mismo cultivar.

Cuadro 14. Variable peso de mil semillas (gr.)

Lote	PMS
807	2,6423 a
Test	2,5955 ab
751	2,5558 ab
209	2,4563 ab
496	2,4370 ab
349	2,3645 abc
34	2,2775 abc
292	2,1708 abc
216	2,1460 abc
325	2,0735 abc
234	1,8765 bc
319	1,6995 c
Media	2,275
CV	25,217
P>F	0,0055
MDS (Tukey)	0,7327

Se encontraron diferencias significativas en el peso de mil semillas para los lotes 234 y 319 con respecto al testigo. Esto también es afirmado en el test de Dunnett, ver cuadro 18 en anexos

Si bien sabemos que el lote 216 presenta un 19,9% de semilla tetraploide, esto no se ve reflejado en el peso de 1000 semillas, ya que esta debería de ser significativamente mayor. Al ser esta característica altamente influenciada por el ambiente, no nos permite inferir de manera certera.

4.2. PRUEBA DE DIFERENCIACION DE MEDIAS

Aquí se analizarán las variables de ranking estudiadas en el experimento.

Primero se estudiaron las distribuciones de cada ranking en sus niveles correspondientes. Para ello se chequearon las probabilidades teóricas de cada tratamiento en cada nivel. Se observó que las medias son representativas de los ranking, por ende se presentan solamente los cuadros con las medias. La distribución de los ranking en sus niveles correspondientes puede verse en los cuadros 19 a 24 inclusive en anexos.

Para todos los casos, letras diferentes difieren significativamente con 95 % de confianza.

Cuadro 15. Variable susceptibilidad a roya

Lote	SR	
496	1,69283	a
349	1,49027	ab
216	1,43458	abc
209	1,42747	abc
751	1,41210	abc
34	1,36513	bc
Test.	1,35241	bc
319	1,23178	cd
807	1,20745	cd
292	1,19893	cd
234	1,10473	d
325	1,04853	e

Todos los lotes presentan una susceptibilidad nula con tendencia a baja en algunos casos. Aquí el testigo se encuentra ubicado como un lote promedio entre de los demás. Los lotes más susceptibles van desde el 496 al 751 entre los que no existen diferencias significativas, ver cuadro IV. 14. El lote 209 aparece dentro de este grupo mencionado

como de susceptibilidad nula y el 325 sería el menos susceptible a dicha enfermedad. De todas maneras no existieron ataques severos de roya, ni tampoco se apreciaron valores medios y altos considerables en el total de plantas estudiadas. La mayor frecuencia observable se ubico en el valor nulo con 562 observaciones, ver cuadro 25 en anexos.

Cuadro 16. Variable color

Lote	COL	
34	3,1176	a
234	3,0262	ab
292	2,9929	abc
216	2,9581	abc
319	2,9503	abc
807	2,8558	bcd
325	2,8440	bcd
751	2,8341	bcd
349	2,7777	cd
496	2,6398	de
Test.	2,4899	e
209	2,4150	e

Para la variable color se consideraron tonos de verdes como fue dicho anteriormente. En este caso fue el verde intermedio quien obtuvo la mayor frecuencia de observaciones, siendo estas 411, ver cuadro 26 en anexos. Este fue seguido por el color verde claro.

El lote 209 junto con el testigo y el lote 496 presentaron una tendencia al color más claro. Por otro lado vemos que el 319, si bien es diferente estadísticamente al testigo, tiene una mayor inclinación hacia el verde intermedio. A su vez como era de esperar en un lote contaminado de tetraploide como lo es el 216, el valor del color es muy cercano al verde intermedio.

Probablemente en las 96 observaciones de color verde oscuro, ver cuadro 26 y figura 27 en anexos, se encuentren las plantas del lote contaminado con tetraploide, así como los lotes de porte más postrado o semi-postrados.

Cabe mencionar el hecho de que se debe tener en cuenta que el color de hojas de una planta es el reflejo la concentración de clorofila. Por lo que sería pertinente realizar medidas de ésta en hoja para poder diferenciar lotes en cuanto a su eficiencia fotosintética. Esto quedaría pendiente para futuros experimentos.

Cuadro 17. Variable macollaje

Lote	MAC	
34	4,33601	a
349	4,21177	ab
209	4,0266	bc
Test.	3,96793	c
325	3,93807	cd
807	3,92548	cd
319	3,92291	cd
292	3,8482	cd
216	3,82937	cde
234	3,69795	def
751	3,56395	ef
496	3,54567	f

Los valores de macollaje sugieren mencionar que en el momento de la observación las plantas se encontraban estresadas debido al trasplante desde las almacigueras del invernáculo al campo. De todas maneras podemos hacer una diferenciación entre lotes. Vemos una tendencia al menor macollaje con valores bajos como lo son el lote 34 y 349 respectivamente. El testigo, el 209 y otros presentan valores cercanos al bajo, y por último los lotes que tienden a un valor de macollaje intermedio son 234, 751 y 496. Pueden verse los valores de frecuencias en el cuadro 27 en anexos.

Cuadro 18. Variable vigor

Lote	Vi.	
319	4,32479	a
34	4,23786	ab
234	4,08066	bc
292	3,91558	cd
216	3,88943	cde
325	3,85182	cde
349	3,79157	def
751	3,76652	def
807	3,68639	defg
496	3,57155	fg
209	3,45894	g
Test.	2,97053	h

Como se dijo en macollaje, para esta variable medida ocurrió lo mismo referido al estrés que sufrieron las plantas.

En esta variable existe una variación más amplia entre lotes, que va desde el testigo, que se aparta del resto significativamente, con un valor que tiende a medio-grande. El lote 209 es quién se acerca más pero con diferencias significativas. Por el otro lado lotes como el 319 y 34 presentan un vigor chico.

La frecuencia de observación se sitúa en el vigor chico con 401 observaciones, ver cuadro 28 en anexos. Lo sigue el vigor medio pero también existe un número importante de observaciones con valor muy chico.

Cuadro 19. Variable porte en estado vegetativo

Lote	Pv.	
496	3,06084	a
319	2,91739	a
234	2,8737	a
751	2,79224	ab
216	2,78542	ab
292	2,70303	ab
34	2,47599	bc
807	2,46979	bc
325	2,30171	cd
Test.	2,05924	d
209	2,03238	d
349	1,98173	d

En el porte vegetativo se observa que el lote 209 y el 349 se asemejan al testigo sin presentar diferencias significativas.

El valor de porte intermedio es el que aparece con mayor frecuencia, 251 observaciones, ver cuadro 29 en anexos. Le sigue con un valor alto de observaciones el porte semi-erecto. A pesar de que se observaron plantas con porte postrado y semi-postrado no se aprecian medias con valores mayores al porte intermedio.

Cuadro 20. Porte en estado reproductivo

Lote	Pr.	
751	2,29256	a
292	2,24226	ab
Test.	1,99453	bc
496	1,97723	bc
216	1,93624	c
349	1,90978	c
807	1,89587	cd
319	1,88174	cd
325	1,86778	cd
209	1,83279	cd
34	1,73718	cd
234	1,63707	d

Se aprecia en esta variable como los lotes tienden a ser más erectos en el estado reproductivo, así como también todos tienden a disminuir las diferencias entre ellos. El valor más frecuente es el semi-erecto, con 306 observaciones, ver cuadro 30 en anexos.

En el promedio de observaciones de todos los lotes, vemos como cambia de porte intermedio en estado vegetativo a semi-erecto en estado reproductivo. Lotes como el 751 y 292 se diferencian del resto significativamente siendo estos de porte semi-erecto con tendencia a medio. Para los demás la tendencia es entre porte semi-erecto a erecto. También se observaron 240 plantas con porte erecto, las cuales le siguen a la frecuencia más alta la cual fue semi-erecto.

4.3. CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES CONTÍNUAS

A continuación se presentan las correlaciones entre las variables cuantitativas ($p < 0,05$). Se muestran las variables medidas en estado vegetativo así como las medidas en estado reproductivo.

Cuadro 21. Correlación entre las variables cuantitativas

	Alt. veg.	Diam	Larg hoja	Anch hoja	Larg hb	Anch hb	Rel. l/a	Dist. n/e	Alt. Rep.	Larg esp.	Espi. x esp	Días a flor	Peso mils	Rend
Altv	1	0,26	0,61	0,52	0,45	0,39	0,26	0,28	0,49	0,23	0,17	-0,47	0,28	0,35
Diam		1	0,65	0,51	0,36	0,31	0,21	0,33	0,54	0,42	0,39	-0,22	0,29	0,36
Lh			1	0,73	0,54	0,48	0,30	0,37	0,62	0,46	0,39	-0,27	0,31	0,47
Ah				1	0,44	0,59	0,09	0,31	0,47	0,35	0,30	-0,40	0,41	0,26
Lhb					1	0,60	0,78	0,27	0,47	0,38	0,21	-0,37	0,37	0,35
Ahb						1	-0,01	0,28	0,42	0,36	0,30	-0,18	0,41	0,30
RI/a							1	0,12	0,27	0,19	0,02	-0,33	0,18	0,24
n/e								1	0,50	0,35	0,25	-0,12	0,23	0,20
Altr									1	0,61	0,45	-0,29	0,34	0,50
Le										1	0,64	0,01	0,17	0,31
Esp/e											1	0,17	0,07	0,37
Daf												1	-0,42	-0,05
Pms													1	0,23
Rend														1

Las correlaciones marcadas en rojo no son significativas con ($p < 0,05$).

La variable altura de planta en estado vegetativo, presenta correlaciones altas y positivas con las variables largo de hoja, ancho de hoja, y altura de planta en estado reproductivo, presentando valores de 0,62; 0,52 y 0,49 respectivamente (cuadro 21). Esto demuestra la influencia en la altura de planta que tienen variables tales como, largo y ancho de hojas secundarias de una planta. También se explica como una planta más alta al principio del ciclo lo será en estado reproductivo, donde las plantas tienden a aumentar y equilibrar la altura entre ellas. Esta misma variable también presenta correlación negativa con la variable días a floración con un valor de - 0,47. Sugiriendo que plantas con mayor altura en la primera etapa de vida, fase vegetativa, presentan una tendencia a

florecer antes. Esto estaría confirmando nuevamente lo encontrado por Kelly y Boyd (1966), y por Kalton (1996).

También existe correlación positiva entre altura en estado vegetativo y la variable largo de hoja bandera, con un valor de 0,45. Esto significa que plantas con mayor largo de hojas secundarias y de hoja bandera así como también con mayor ancho de hoja, tenderán a ser más altas en estados vegetativo. Inversamente plantas con menor altura y menor largo de hojas, aumentaran sus días para llegar a floración, Olivieri et al.(2006).

La variable diámetro de la planta presenta correlaciones positivas y altas con las variables largo de hoja, altura de planta es estado reproductivo, y ancho de hoja, presentando valores de 0,65; 0,54 y 0,51 respectivamente (cuadro IV.20). Lo mismo que ocurre para la variable altura en estado vegetativo, sucede con el diámetro en lo que respecta a la incidencia del largo y ancho de las hojas secundarias de la planta.

La variable largo de hoja presenta correlaciones altas y positivas con las variables ancho de hoja, y altura en estado reproductivo, presentando valores de 0,73 y 0,62 respectivamente (cuadro IV.20), a demás de las correlaciones ya vistas antes con las variables (altv) y diámetro de planta. También esta correlacionado positivamente pero de forma menos marcada con largo y ancho de hoja bandera, largo de espiga y rendimiento de planta con valores de 0,54; 0,48; 0,42 y 0,47 respectivamente (cuadro IV.20). Esto explica que una planta con mayor largo de hoja tendería a producir un mayor rendimiento de semilla, lo cual asociado a una mayor producción de hojas tanto del tallo principal como de los otros macollos (Plantel, 1958) lograría entonces una alta cantidad y uniformidad de macollos (Kalton et al., 1996). Bean (1972), mencionaba que seleccionando a favor un de mayor número y tamaño de inflorescencias se disminuye la producción de hojas y por lo tanto de forraje, debido a esto se apunta a seleccionar por tamaño de flor y eficiencia de esta para producir semilla.

La variable ancho de hoja presenta, a demás de lo ya mencionado antes, correlaciones altas y positivas con las variables ancho de la hoja bandera y altura en estado reproductivo, presentando valores de 0,59 y 0,47 respectivamente. También presenta correlación positiva pero menos marcada con la variable largo de hoja bandera, valor de 0,44. Presenta a su vez una correlación negativa con un valor de $-0,40$ con la variable días a floración.

Las variables altura en estado vegetativo, peso de mil semillas y ancho de hoja son las que tienen los mayores valores negativos al correlacionarlas con la variable días a floración. Por lo tanto son la que más influirían en la precocidad de la floración, siendo la más importante la variable altr.

La variable largo de hoja bandera presenta correlaciones altas y positivas con la variable relación largo/ancho de hoja bandera y ancho de hoja bandera, con valores de 0,78 y 0,60 respectivamente, además de la ya mencionada correlación con la variable largo de hoja. También existe una correlación positiva pero menor con la variable altura en estado reproductivo. De todas maneras es más fuerte la correlación existente entre esta variable altr. con la variable largo de hoja. Por lo tanto el largo de las hojas secundarias estaría explicando en mayor proporción el aumento de altr de lo que lo hace el largo de hoja bandera.

La variable distancia entre el último nudo y la base de la espiga, presenta correlación alta y positiva, con un valor de coeficiente de 0,50 con la variable altura en estado reproductivo. Esto demuestra como una mayor distancia en el tallo entre el último nudo y la base de la espiga, incide de manera positiva en el aumento de la altura de la planta en estado reproductivo.

Además de lo ya mencionado antes, altura en estado reproductivo también presenta correlación alta y positiva con variables como largo de espiga y espiguillas por espiga,

con valores de 0,61 y 0,45. A su vez con rendimiento en planta presenta una correlación alta y positiva de 0,50. Por otro lado aumenta el espacio para la ubicación de espiguillas, esto permitiría por lo tanto un mayor rendimiento de la planta.

En cuanto a la variable largo de espiga, se correlaciona alta y positivamente con la variable número de espiguillas por espiga, con un valor de 0,64. Como se mencionó anteriormente, un aumento en el largo de espiga permitiría disponer de más lugar para alojar un mayor número de espiguillas. Ambas variables son las únicas en presentar correlaciones positivas con la variable días a floración, siendo estos coeficientes bajos. Al ser dichos coeficientes bajos no podríamos inferir nada en particular.

Con respecto a la variable días a floración, ésta se correlaciona de forma negativa con la variable peso de mil semillas, presentando valor de $-0,42$. Un aumento de los días a floración, o sea una floración más tardía podría estar determinado una disminución en el peso de la semilla cosechada, por lo que plantas más precoces tenderían a producir semillas más pesadas, pero no necesariamente más semillas.

Se observa en el cuadro IV.20, como la variable peso de mil semillas se encuentra correlacionada positivamente con dos variables similares como los son ancho de hojas secundarias y ancho de hoja bandera, ambas con valores de 0,41. Esto significa que en este trabajo son las únicas variables que al aumentar sus valores tenderían a incrementar el peso de la semilla.

Como resultado de este estudio se puede concluir que las variables que tienen en general altas correlaciones son largo y ancho de hojas secundarias y altura en estado reproductivo, le siguen en menor proporción altura en estado vegetativo, y largo de hoja bandera. Sabemos que las correlaciones entre las variables seguramente son resultados de años de programas de mejoramiento y selección natural. Conocerlas es de gran utilidad

para contar con información relevante al momento de seleccionar materiales para ser incluidos en programas de mejoramiento genético.

4.4. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Se tomaron los dos primeros componentes principales ya que estos explican un 87.64% de la variación total.

Cuadro 22. Valores propios y proporción de la variación retenida por cada uno de los 2 primeros componentes principales en forma individual y acumulada resultado del análisis de componentes principales en base a 14 variables medidas en los 12 CV.

	Valores propios	% variación retenida	% variación acumulada
C.P. 1	9,69	69,27	69,27
C.P. 2	2,57	18,37	87,64

El primer componente explica el 69.27 % de la variación total (cuadro 22). Las variables que tienen mayor peso en la determinación del primer componente son: ancho de hoja bandera y largo de hoja bandera, ambas con valores positivos. Le siguen por debajo las variables largo de hoja secundaria, ancho de hoja secundaria y distancia entre el último nudo y base de la espiga también con valores positivos. Igualmente todas las variables explican entorno a esos valores, ver cuadro 31 en anexos.

El segundo componente explica el 18.37 % de la variación total (cuadro 22). En este, la variable que presenta mayor peso es número de espiguillas por espiga seguidos por largo de espiga y días a floración, ver cuadro 31 en anexos.

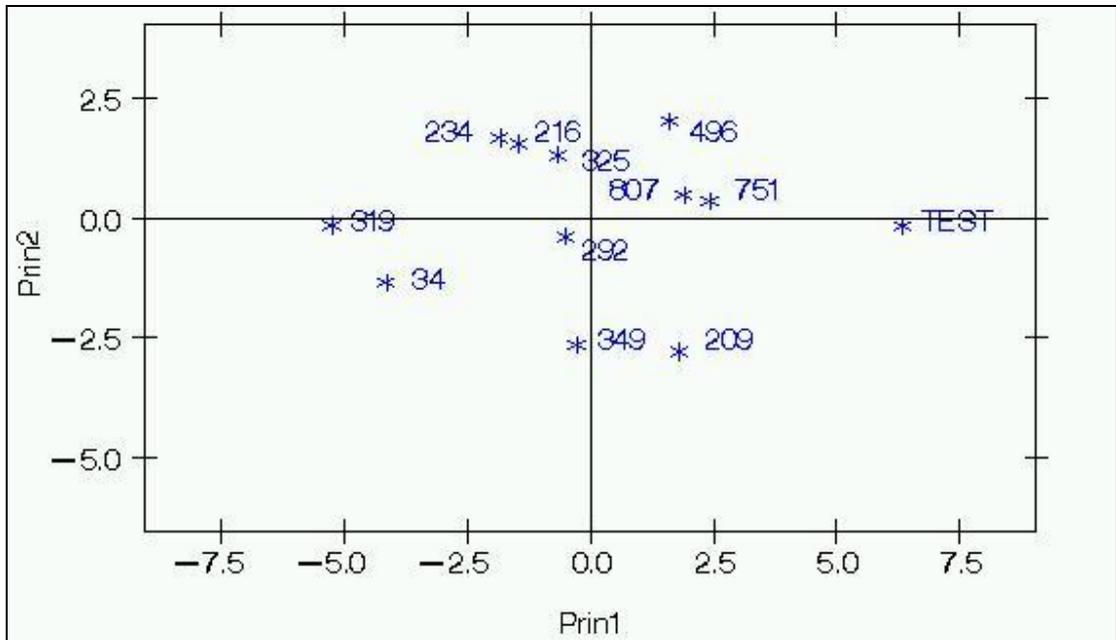


Figura 4. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de los dos primeros componentes principales (Prin 1 y Prin 2)

En la figura 4 se han graficado los cultivares individuales en función de los dos primeros componentes principales. Aquí se puede apreciar que el primer componente principal realiza una discriminación mayor entre el testigo y los demás cultivares, reduciéndose la discriminación al analizar el componente dos. Es mayor la dispersión entre los materiales observando el componente uno. En el caso de la lectura en la gráfica del componente dos, los materiales 319 y 292 se aproximan bastante al testigo.

Se observa que el material 319 y el 34 son los más alejados del testigo, como también el 209 y el 751 son los más cercanos. Hay también un grupo de materiales que son muy cercanos entre sí, que aparecen en el centro del gráfico.

En general, el testigo se aparta de lo que son los demás materiales que forman la mayoría un grupo en el centro del gráfico. Como se dijo antes, esta diferencia esta

explicada mayormente por el componente uno. No existe gran variabilidad entre los lotes que se apartan del testigo.

También puede verse en anexos en la figura 27 el biplot de componentes principales donde se ven además de los cultivares las 14 variables cuantitativas con sus respectivas flechas.

Para llegar a determinar cuales son las variables que discriminan mejor entre estos lotes se recurrió al análisis discriminante para las variables continuas.

4.5. ANÁLISIS DISCRIMINANTE

El análisis discriminante fue llevado a cabo utilizando dos métodos de selección de variables Stepwise y Forwrad.

Cuadro 23. Variables continuas con sus respectivos R^2 para Stepwise

Característica	R^2 parcial
Daf	0,4789
LH	0,2461
PMS	0,1653
REND	0,1206
ALTv	0,1167
DIAM	0,1079
LHB	0,1074
ALTr	0,0866
LE	0,0952
RLA	0,0828
AHB	0,0785
LHB	0,0637

Con Stepwise, se llegó a la conclusión, como se puede ver en el cuadro, que las variables que más discriminan según sus R^2 parciales son Daf, que es la más importante, seguida por LH y PMS. También vemos que la única variable que fue sacada del análisis fue LHB, mientras que las otras 7 variables tienen menor influencia por lo que no será pertinente utilizarlas para futuras discriminaciones a campo.

Puede verse en anexos el cuadro 33 que resume el comportamiento de los eigenvalues, donde se ve que aproximadamente el 30% está explicado por el componente 1, pero para el caso de las variables LE, ESP*E, Daf y Rend. están mayormente explicadas por el prin 2, por esta razón no se omitió.

Cuando se utilizó el método Forward, se obtuvieron los mismos resultados que figuran en el cuadro de Stepwise. O sea que las variables cuantitativas que más discriminan entre los cultivares estudiados son Daf, LH y PMS. La única diferencia está en que este método no saca variables del análisis por lo que LHB no figura en la última fila del cuadro.

4.6. COORDENADAS PRINCIPALES

Se realizó el análisis de las coordenadas principales para todas las variables, para observar si cambian los grupos al incluir las variables cualitativas.

La matriz de distancias entre los cultivares puede verse en el cuadro 32 en anexos que es el punto de partida del gráfico siguiente, donde:

Cuadro 24. Correspondencia de distancias con lotes

Dist1	Dist2	Dist3	Dist4	Dist5	Dist6	Dist7	Dist8	Dist9	Dist10	Dist11	Dist12
34	209	216	234	292	319	325	349	496	751	807	Test.

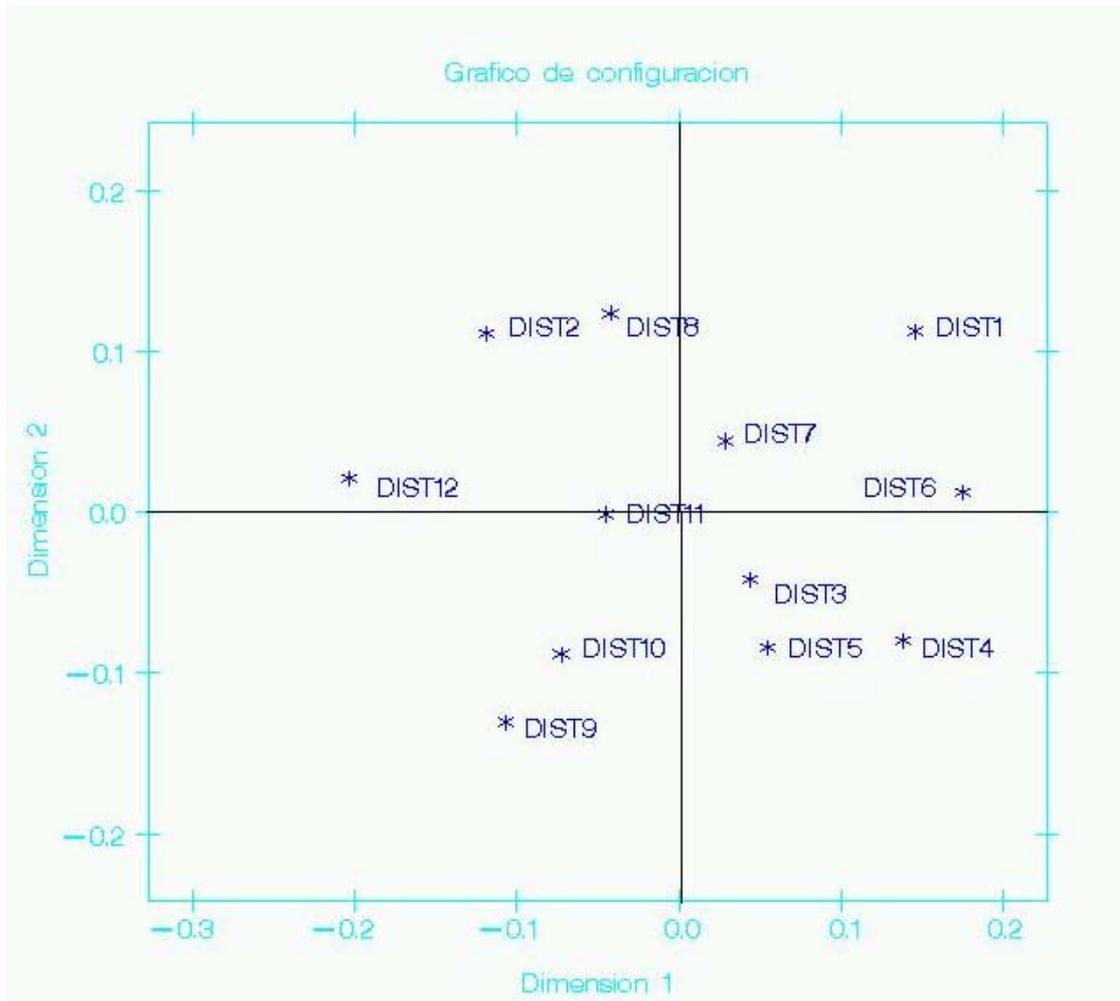


Figura 5. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de las 2 primeras dimensiones.

Este gráfico es el efecto espejo del presentado en el análisis de componentes principales. Vemos los grupos formados por los mismos cultivares, así como por ejemplo los lotes 319 y 34 son los más alejados del testigo, mientras que el 209 y el 349 son los más cercanos o sea exactamente lo mismo ya descrito en la sección anterior.

El porcentaje de variación total explicado con este análisis es del 0,4566. O sea que las variables cualitativas no mejoraron el ajuste ya que solamente nos da la mitad de la variación.

Por esto, estudiamos solamente el efecto de las variables cualitativas. Aquí vemos que el componente 1 más el 2 explican el 73% de la variación total.

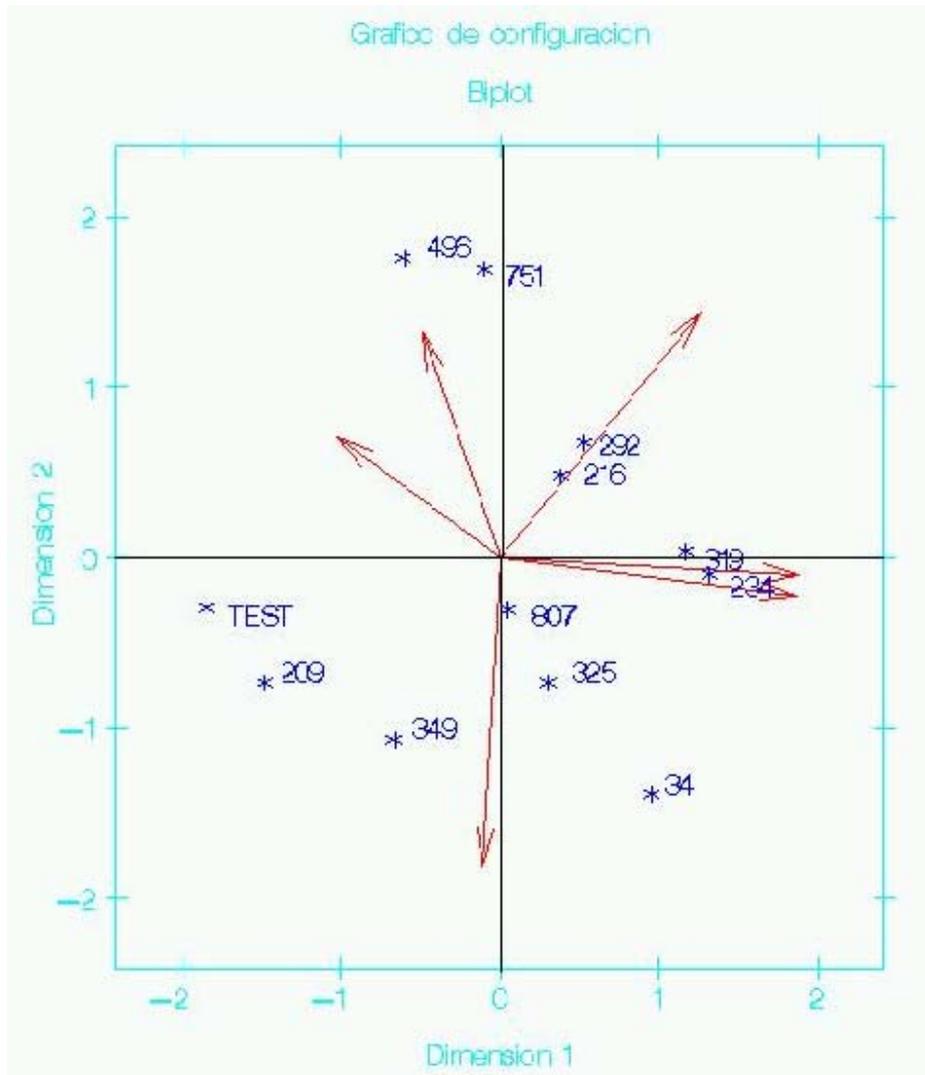


Figura 6. Distribución de los 12 lotes evaluados en función de las 2 primeras dimensiones para variables de ranking

En el gráfico se pueden ver además de los cultivares las seis variables cualitativas representadas con las líneas rojas. Aquí vemos nuevamente el efecto espejo de figura 4 presentada anteriormente, por lo que se obtendrían las mismas conclusiones.

5. CONCLUSIONES

5.1. CONSIDERACIONES FINALES

A continuación se resumen en el siguiente cuadro comparativo las variables más relevantes discutidas en el trabajo.

Cuadro 25. Cuadro comparativo

	Daf ^{rel}	Altv	LHB	AHB	PMS	COL	MAC	Pv	Pr
TEST	0	20	20,9	0,93	2,59	2,49	4	2,05	1,99
209	1	18,2	17,6	0,83	2,46	2,41	4	2,03	1,83
349	3	16,9	15,9	0,78	2,36	2,78	4,2	1,98	1,91
X	1,33	18,37	18,13	0,85	2,47	2,56	4,07	2,02	1,91
807	9	15,1	17,9	0,86	2,64	2,86	3,9	2,47	1,9
292	11	12,6	16,3	0,77	2,17	2,99	3,8	2,7	2,24
751	12	14,8	19,4	0,91	2,55	2,83	3,6	2,79	2,29
496	14	13,9	16,3	0,86	2,44	2,64	3,5	3,06	1,98
X	11,50	14,10	17,48	0,85	2,45	2,83	3,70	2,76	2,10
34	16	12,9	12,9	0,76	2,28	3,12	4,3	2,48	1,74
325	16	14,6	15,8	0,8	2,07	2,84	3,9	2,3	1,87
234	18	12,7	13,5	0,75	1,88	3,03	3,7	2,87	1,64
319	20	10,3	11,9	0,66	1,7	2,95	3,9	2,92	1,88
X	17,50	12,63	13,53	0,74	1,98	2,99	3,95	2,64	1,78
216	22	13,2	15,3	0,85	2,15	2,96	3,8	2,78	1,93

Cabe destacar la gran diferencia de ciertas variables medidas encontradas entre los lotes. La variación total del experimento esta explicada mayormente por las variables cuantitativas, ya sea por las medidas de hoja así como también la de los días a floración.

La variable más importante es días a floración, quien mayormente permite discriminar y agrupar lotes. En el cuadro 25, se presentan los días a floración relativos, siendo el testigo la base cero días, ya que fue el más temprano. Dejando de lado el lote

216 por estar contaminado con tetraploides (4n), parecería que existieran tres grandes grupos.

El primer grupo está integrado por los lotes 209, 349 y el testigo Estanzuela 284, ya que son muy similares. Estos presentan una mínima diferencia en días a floración.

El segundo grupo comprende los lotes 807, 292, 751 y 496. Presentan una floración de aproximadamente 10 días más tardía que la del testigo.

El último o tercer grupo lo integran los lotes 34, 325, 234 y 319. Éstos son demasiado tardíos para ser LE 284, y probablemente deriven o estén mezclados con otros raigráses diploides tardíos que han entrado en el mercado.

Al comparar los lotes utilizando las demás variables del cuadro, vemos que el primer grupo presenta la mayor Altv. y si bien el LHB también es el de mayor valor, éste no presenta diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 1 y 2.

Las variables medidas en hojas, tanto las de hoja bandera como las de hojas secundarias muestran como los lotes más tardíos presentan las medidas más bajas. Esto acompañado también de una menor altura vegetativa.

También vemos una tendencia a disminuir el PMS a medida que aumentan los Daf.

O sea que plantas más altas, con mayor largo de hoja bandera y mayor peso de semillas son más precoces. Así como también tienen un mayor ancho de hoja bandera y un color más claro. Es el primer grupo quién reúne todas estas características.

Vemos correlaciones entre el porte semi-postrado y postrado con el color verde más oscuro de la planta. No obstante el lote 216 contaminado con 4n presenta a su vez un color verde oscuro debido a sus características propias.

En cuanto al MAC, el de menor valor es el primer grupo y los otros dos presentan valores de medio a bajo. Por esto podemos afirmar que el segundo grupo es quien presenta valores mayores de macollaje y portes más postrados de planta.

En la etapa vegetativa de los lotes es donde se dan las mayores diferencias, principalmente en cuanto a altura de planta y porte, mientras que en la etapa reproductiva se tienden a emparejar estas diferencias. No obstante, como se dijo anteriormente, la variable más importante medida, días a floración es determinada en la etapa reproductiva del cultivo. Las medidas referentes a la espiga y rendimiento de planta, en este trabajo no presentaron diferencias.

5.2. OBSERVACIONES FINALES

Si asumimos que el muestreo realizado refleja la situación de la semilla comercial de raigrás LE 284 en el Uruguay, el 80% de los lotes estudiados (9 en 11) no responden al tipo varietal.

La variación total del experimento esta explicada mayormente por las variables cuantitativas (87,6 %), ya sea por las medidas de hoja así como también por los días a floración.

La variable más importante es días a floración, quien mayormente permite discriminar y agrupar lotes.

Dejando de lado el lote 216 por estar contaminado con tetraploides (4n), existen tres grandes grupos. El primer grupo (lotes 209, 349 y testigo) presenta una mínima

diferencia en días a floración entre los lotes y el testigo, plantas más altas, con mayor largo de hoja bandera y mayor peso de mil semillas. Así como también tienen un mayor ancho de hoja bandera y un color más claro.

El segundo grupo (lotes 807, 292, 751 y 496) corresponde a plantas de aproximadamente 10 días de floración más tardía que la del testigo, valores mayores de macollaje y portes más postrados de planta.

El tercer grupo (lotes 807, 292, 751 y 496) presenta floraciones más tardías que los grupos anteriores, de hasta 20 días con respecto al testigo. Las plantas son más bajas, de menor largo y ancho de hoja bandera y peso de mil semillas, y de color verde más oscuro.

6. RESUMEN

En el Uruguay el uso de semilla de raigrás *Lolium multiflorum* Lam., ha sido de 9.400 toneladas en el año 2007, donde gran parte de esta semilla se produce en el país. En la producción anual, la incidencia que tiene en el volumen producido la semilla certificada es muy baja. Existen normas vigentes que indican que toda la semilla que se vende debe estar con identificación varietal a cargo de las empresas semilleras. De todas maneras en estos últimos 10 a 15 años se ha incrementado el uso de cultivares foráneos. El objetivo de esta tesis fue comprobar que los diferentes lotes de semilla comercial recolectados hoy en día e identificados, como LE 284 responden al tipo varietal. Fueron evaluados 12 tratamientos (11 lotes más un testigo) con 2 repeticiones. Cada tratamiento fue estudiado a nivel de planta. Se trata de 30 plantas distintas para cada tratamiento en las que se llevaron a cabo las observaciones. Se sembraron las almacigueras el día 16 de Abril de 2007 para posteriormente ser transplantadas al campo el día 4 de julio del mismo año siguiendo el protocolo de UPOV. El diseño experimental fue de Bloques Completos al Azar con 2 repeticiones para el estudio de las 14 variables cuantitativas. Para el estudio de las 6 variables de ranking se procedió con el Modelo Lineal Generalizado. El tipo de parcela utilizado fue de plantas aisladas. Las variables fueron observadas en las etapas vegetativa, reproductiva y posterior a la cosecha. En las etapas vegetativas se determinaron las siguientes variables: altura, porte, diámetro, vigor y color de planta, largo y ancho de hoja, macollaje de planta, largo y ancho de hoja bandera y distancia entre el último nudo y base de la espiga. En la etapa reproductiva se midieron: altura y porte de planta, largo de espiga y número de espiguillas por espiga, días a floración y susceptibilidad a roya. Luego de la cosecha se midieron rendimiento por planta y peso de mil semillas. Las variables cuantitativas se analizaron siguiendo el modelo de análisis de varianza en bloques con submuestro (Test de Tukey y Dunnett). También se realizó una descripción univariada (Boxplot) y una multivariada (componentes principales y análisis discriminante). Para componentes principales se utilizó como medida de distancia el coeficiente de correlación lineal de Pearson. Para las variables de ranking se utilizó la prueba de diferenciación de medias. También se utilizó una descripción multivariada (coordenadas principales) para el estudio de todas las variables. De los distintos análisis realizados se desprende que dejando de lado el lote 216 por estar contaminado con tetraploides (4n) hay una clara separación en 3 grupos. El primer grupo está integrado por los lotes 209, 349 y el testigo Estanzuela 284, ya que son muy similares en cuanto a la floración. El segundo grupo comprende los lotes 807, 292, 751 y 496, presentan una floración de aproximadamente 10 días más tardía que la del testigo así como un mayor valor de macollaje y porte más postrado, por lo tanto, éstos grupos serían similares al cultivar INIA Cetus. El último o tercer grupo lo integran los lotes 34, 325, 234 y 319 los cuales por ser demasiado tardíos se alejan mucho de los dos grupos anteriores. La variable más importante medida fue días a floración, quien mayormente permite discriminar y agrupar lotes. Si asumimos que el muestreo realizado refleja la situación de la semilla comercial de raigrás LE 284 en el Uruguay, el 80% de los lotes estudiados (9 en 11) no responden al tipo varietal.

Palabras clave: *Lolium multiflorum* Lam.; Raigrás anual; Estanzuela 284; Deriva genética; Mantenimiento varietal en forrajeras alógamas; Semilla comercial.

7. SUMMARY

The use of *Lolium multiflorum* Lam. seed in Uruguay in 2007 has been of 9.400 tons, with the greatest volume produced in the country. On the whole production of seed only an insignificant volume corresponds to certified seed. Nowadays there are laws which stipulate that all the seed in the market should have varietal identification. Despite this, for the last 10-15 years there has been an increase in the use of foreign cultivars. The aim of this experiment is to prove that the different commercial seed lots collected nowadays and identified as LE 284 cultivar correspond in fact to the varietal type. Twelve treatments (11 lots and a testing lot) have been evaluated with two repetitions. Each treatment was studied at plant level. There are 30 plants for each treatment in which observations were carried out. Following the UPOV protocol the seed bed was planted on 16th April 2007 and they were transplanted on 4th July. The experimental design for the 14 quantitative variables was Complete Random Block with two repetitions. On the other hand, for the 6 ranking variables the generalized linear model was used. The kind of plot that was used corresponds to isolated plants. The variables were observed during the vegetative and reproductive step and after the harvest. Plant height and appearance, plant diameter, color and vigor, leaf length and width, plant tillering, flag leaf length and wide, and distance between the last knot and the spike base were determined during the vegetative step. On the other hand, for the reproductive stage, plant height and appearance, spike length, number of spikelet per spike, flowering day and *Puccinia recondita* disease susceptibility were measured. Plant performance and 1000 seed weight were measured after the harvest. The quantitative variables were analyzed following the block variance analysis with sub sample (Tuket and Dunnett test). Also a univariated description (Boxplot) and a multivariated description (main component and discriminate analysis) were carried out. It is necessary to say that the Pearson lineal correlation coefficient was used as a distance measure for the main component analysis. The average differentiation test was used for the ranking variables. Finally, a multivariated description (principal coordinates) was used for all the variables. Of the different analyses it is clear that, leaving the 216 lot aside due to its contamination with tetraploids (4n), there is a clear separation in three big groups. The first one, with no differences in the flowering process, consists of the 209, 349 lots and the LE 284 itself. The second one comprises the 807, 292, 751 and 496 lots. This group has a 10 days longer flowering than the LE 284 and it has a bigger tillering and a smaller appearance. For all this, this group can be considered similar to the INIA Cetus ryegrass cultivar. The last group includes the 34, 325, 234 and 319 lots, but as they are so older in flowering day it is not possible for them to be a part of any of the other groups. The most important variable is flowering day as it allows to discriminate between lots and to regroup them. If we assume that the sampling represents the uruguayan LE284 ryegrass commercial seed situation, the 80 % of the lots that have been studied (9 in 11) do not match the varietal kind.

Keywords: *Lolium multiflorum*; Annual ryegrass; Estanzuela 284; Genetic shift; Varietal maintenance in cross-pollinated grasses; Commercial seed.

8. BIBLIOGRAFIA

1. ABRAHAM, M.; MORENO, F.1996. Producción de semilla y componentes del rendimiento en *Bromus auleticus*, para los ecotipos Tacuarembó y San Gregorio. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 96 p.
2. ACOSTA; CASSINELLI, P.; CASAS; BABBA, L.1993. Estudio de la variabilidad en poblaciones y progenies de *Bromus auleticus* Trinius ex nees. 1829. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 85 p.
3. AITKEN, Y. 1966. The flowering response of crop and pasture species in Australia. Australia. J. Agric. Res. 17: 821-839.
4. ALLARD, R. W. 1967. Principios de la mejora genética de las plantas. Barcelona, Omega. 220 p.
5. BEARD, D. F.; HOLLOWELL, E. A. 1952. Herbage seed production. In: International Grassland Congress (6th., 1952, California, U.S.A.). Proceedings. Davis, University of California. v.1, pp. 860-866.
6. BULA, R. J. 1966. Plant-type comparisons of red clover, *Trifolium pretense* L., from seed produced at diverse latitudes. In: International Grassland Congress (10th., 1966, Ontario, Canada).Proceedings. s.l., University of Guelph. Department of Crop Science pp. 783-786.
7. CALLOW, J.A.; FORD-LLOYD, B.V.; NEWBURY, H.J. 1997. Biotechnology plant genetic resources. s.l., University of Birmingham. School of Biological Sciences. s.p. (Biotechnology in Agriculture Series no.19).
8. CARAMBULA, M. 1981. Pasturas y forrajes, potenciales y alternativas para producir forraje. Montevideo, Hemisferio Sur. 357 p.
9. COOPER, J.P. 1959. The stability of s23 perennial ryegrass during seed multiplication. Flowering behaviour and early seedling growth. J. Br. Grass. Soc. 14: 183 – 190.
10. CRUZ, G.; PITTAMIGLIO, C.1993. Estudio de la variabilidad entre y dentro de poblaciones de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 73 p.

11. DAVIES, W. 1954. Shift in late-flowering strain of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). In: European Grassland Conference (1954, Paris). Proceedings s.n.t. pp. 102-106.
12. DE IDOYAGA, J.; SUAREZ, USHER, A. G. 1994. Variabilidad en poblaciones, progenies y plantas de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 89 p.
13. ESQUINAS ÁLCAZAR, J. T. 1982. Los recursos genéticos una inversión segura para el futuro. Madrid, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. p.34.
14. FERRANDO, M.; SORRONDEGUI, D. 1998. Efecto de variables de manejo en la producción de semillas de raigrás INIA Titán. La Estanzuela, Colonia, INIA. p.3.
15. GARCIA, J. A. 1979. Selección fenotípica recurrente en raigras anual cv LE 284. In: Reunión Técnica de la Facultad de Agronomía (2ª., 1979, Montevideo). Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. p. 7 .
16. -----, 1998. Titán y Cetus; nuevos cultivares de raigrás de INIA. In: Jornada de Lechería y Pasturas (1998, Colonia). Memorias. Montevideo, INIA. pp. 91-94. (Actividades de Difusión no.163).
17. GARRISON; C. S.; RINCKER, C. M.; DEAN, J. C. 1964. In: International Grassland Congress (10th., 1964, Helsinki, Finland). Proceedings. Helsinki, University of Helsinki. pp. 777-782.
18. GOODENOUGH, D. C. W. 1995. Cultivars, breeding and selection. In: Symposium on Annual Ryegrass (1995, Cedara). Proceedings. s.n.t. pp. 11-13.
19. GRIFFITHS, D. J. 1951. The stability of seed crops of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) to contamination by wind-borne pollen. J. Agric. Sci. 40: 19-38.
20. -----.; LEWIS, J.; BEAN, E. W. 1980. Problems of breeding for seed production in grasses. In: Hebblethwaite, P.D. ed. Seed production London, Butterworths. pp. 61-74.

21. GRIFFITHS, A. J. F; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWANTIN, R. C.; GELBART, W. M. 1998. An introduction to genetic analysis. 6th. ed. New York, W. H. Freeman. pp. 779-816.
22. HAYWARD, M. D.; SACKVILLE, N. R.; HAMILTON, S. s.f.. Genetic diversity – population structure and conservation. In: Institute of Grassland and Environmental Research. Intenational Centre for Agriculture and Biosciences. Bioversity International, annual report. Aberystwyth. cap. 3, pp. 49-76.
23. HEBBLETHWAITE, P. D. s.f. Producción moderna de semilla. s.l., Hemisferio Sur. p.67
24. HORTON, M.; LAUDE; STANDFORD, E. H. 1960. Enviromentally induced changes in gene frequency in a synthetic forage variety grown outside the region of adaptation. In: University of California. Herbage seed production. Davis, California, U.S.A. p.4.
25. INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS, 2002. Protocolo de evaluación de especies forrajeras para el registro nacional de cultivares. Montevideo, INASE. 23 p.
26. KALTON, R. R . 1996. Cool-season forage grasses. In: Barker, R.E.; Welty, R.E. Cool-season forage grasses. s.l., American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. pp. 383-411. (Agronomy Monograph no. 34).
27. KELLY; A. F.; BOYD, M.M. 1966. The stability of cultivars of grasses and clovers when grown for seed in differing environments. In: International Grassland Congress (10th., 1966, Helsinki, Finland).Proceedings. Helsinki, University of Helsinki. pp. 777-782.
28. KENNETH. 1973. Genetical structure of populations. Cambridge, Great Britain, Willmer. 197 p.
29. KNOWLES, R.P.; CHRISTIE, B. R. 1972. Varietal stability in smooth brome grass (*Bromus inernis* Leyss.) as affected by regional seed production. Ontario, Canada. University of Guelph. Department of Crop Science. s.p. (Contribution No. 464).
30. LUSH, J., 1945. Animal breeding plans. Ames, Iowa, The Iowa State College. 443 p.

31. OLIVIERI, V. 1996. Resultados de ensayo de comprobación varietal en lotes fiscalizados de raigrás. Montevideo, Instituto Nacional de Semillas. Montevideo. 14 p.
32. QUEROL, D. 1988. Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado. Lima, Perú, s.e. 218 p.
33. RINCKER, C. M.; MAY, R. G.; RAMPTON, H. H.; GARRISON, C. S.; DEAN, J. G. 1982. Genetic stability of three Italian ryegrass cultivars during seed multiplication in diverse environments. *Crop. Sci.* 22: 377-380.
34. RISSO, D. F.; BERRETTA, E. J.; MORON A. Producción y manejo de pasturas. Montevideo, INIA. pp. 129-134. (Serie Técnica no. 80).
35. RIVAS, M. Modo de reproducción y estructura genética de poblaciones de *Bromus auleticus*. Cap. I Biología reproductiva y variación fenotípica. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 20 p.
36. RUMBALL, W. 1970. Changes in mean character and uniformity of *Lolium (perenne x multiflorum)* var. "grasslands manawa" during seed increase. *J. Agric. Sci.* 13: 605-15.
37. STEBBINS, G. 1950. Variation and evolution in plants. New York, Columbia University. 643 p.
38. UNION INTERNACIONAL PARA LA PROTECCION DE LAS OBTENCIONES VEGETALES. 2006. Raigrás. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. Ginebra. 27 p.
39. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA (ARGENTINA). FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS. 1997. Características de cultivares de *Lolium perenne l.* y *Lolium multiflorum lam.* por electroforesis de las proteínas de las semillas. *Agriscientia.* 5(14): 25-29.
40. UWE, S.; KASTENBAUER, A. 1977. Growth type and yield comparisons of forage species after seed multiplication in Germany and in the United States. *Crop Sci.* 19: 209-213.
41. WHYTE, R.; MOIR, T.; COOPER J. 1959. Las gramíneas en la agricultura. Roma, FAO. 464 p.
42. ZOHARY, D. 1970. Centros de diversidad y origen. In: Frankel, R.; Benneth, A., eds. Genetic resources in plants. Oxford, s.e. pp.33-42.

9. ANEXOS

Cuadro 1. Lotes de semillas identificados por códigos

Nº tratamiento	Lote
1	34
2	209
3	216
4	234
5	292
6	319
7	325
8	349
9	496
10	751
11	807
12	test

Cuadro 2. Diseño experimental del ensayo

⇒ N

bloque 2	751	319	292	209	349	216	34	496	325	234	807	test
	10	6	5	2	8	3	1	9	7	4	11	12

bloque 1	325	807	34	349	319	216	234	292	496	tes	209	751
	7	11	1	8	6	3	4	5	9	12	2	10



Figura 1. Ensayo de plantas aisladas, se pueden ver los distintos lotes con sus 30 plantas por tratamiento y las 2 repeticiones.



Figura 2. Ensayo de plantas aisladas, visto desde otro plano.

Cuadro 3. Escala para variables cualitativas o de ranking

Escala	Pv	Pr	COL	Vi de pl.	MAC	SR
1	erecto	erecto	muy claro	muy grande	muy alto	nulo
2	semierecto	semierecto	claro	Grande	alto	bajo
3	medio	medio	medio	Media	medio	medio
4	semipostrado	semipostrado	oscuro	Chica	bajo	alto
5	postrado	postrado	muy oscuro	muy chica	muy bajo	-

Pv :	Porte en estado vegetativo
Pr:	Porte en estado reproductivo
COL:	Color
Vi :	Vigor en estado vegetativo
MAC:	Macollaje
SR:	Susceptibilidad a roya



Figura 3. Vista de planta de porte vegetativo erecto 1



Figura 4. Vista de planta de porte vegetativo intermedio 3



Figura 5. Vista planta con macollaje muy alto 1



Figura 6. Vista de planta con macollaje alto 2



Figura 7. Vista de planta con macollaje intermedio



Figura 8. Vista de planta con macollaje bajo



Figura 9. Vista de planta con macollaje muy bajo



Figura 10. Vista de planta con vigor muy alto



Figura 11. Vista de planta con vigor alto



Figura 12. Vista de planta con vigor intermedio



Figura 13. Vista de planta con vigor bajo



Figura 14. Vista de planta con vigor muy bajo

Cuadro 4. en el siguiente cuadro se ven los diferentes lotes con el número de planta seleccionadas al azar para la medición de las variables rendimiento y peso de 1000 semillas.

BI

751	PESO	REND.	209	PESO	REND.	Test.	PESO	REND.	496	PESO	REND.	292	PESO	REND.	234	PESO	REND.
1	2,470	23,83	3	3,210	11,21	4	2,615	14,99	8	2,390	30,27	10	1,710	49,24	1	2,085	5,35
4	1,770	25,26	8	2,205	33,40	5	3,565	18,59	9	2,800	37,03	11	2,485	28,05	3	1,920	14,50
8	2,585	6,10	9	2,370	23,18	8	2,640	13,38	10	2,230	13,71	12	1,985	30,62	4	1,390	9,22
10	2,535	32,02	10	2,180	30,38	9	1,875	25,54	12	2,280	18,89	13	2,875	51,13	5	2,375	24,60
11	2,595	31,46	16	2,215	6,57	15	1,465	28,08	13	3,490	19,75	19	2,435	38,40	6	2,060	16,69
16	2,575	21,61	20	3,795	3,08	18	2,835	11,14	23	2,240	49,80	20	1,970	13,87	7	1,685	8,92
27	2,865	33,67	22	2,730	4,60	19	2,570	25,92	26	3,635	43,16	22	1,700	11,27	11	1,595	25,46
28	3,210	27,61	23	2,570	25,29	23	3,360	19,94	27	2,980	36,14	25	2,075	54,01	14	1,330	0,57
29	2,590	38,17	24	1,810	10,51	29	3,100	67,58	28	2,355	44,85	26	2,370	23,04	24	2,305	36,67
30	2,900	39,24	26	3,060	7,75	30	1,975	16,28	30	3,080	32,91	29	1,870	23,78	28	1,820	19,12

216	PESO	REND.	319	PESO	REND.	349	PESO	REND.	34	PESO	REND.	807	PESO	REND.	325	PESO	REND.
3	1,830	21,53	11	1,545	5,93	1	2,685	40,45	1	2,165	10,38	6	3,140	22,49	7	2,400	44,34
6	1,845	25,13	13	1,730	15,04	14	2,335	21,99	2	1,865	13,05	7	2,250	31,58	13	2,760	16,92
7	2,095	30,96	14	1,660	28,68	15	2,250	10,20	17	1,960	2,92	9	2,620	19,79	14	1,925	10,64
8	2,225	36,09	15	1,730	22,50	17	1,740	24,04	24	2,290	20,66	14	2,260	5,06	17	1,660	29,91
24	2,240	20,31	19	1,890	9,64	23	2,375	3,08	25	3,170	20,93	18	2,265	34,07	18	1,840	14,09
25	1,130	6,99	20	1,705	44,97	24	2,300	20,72	26	2,020	41,73	24	2,740	41,54	19	2,630	49,72
26	1,965	9,71	26	1,670	12,60	26	3,035	34,50	27	2,410	8,96	25	3,075	14,09	21	2,325	16,26
27	2,020	21,53	27	2,345	8,55	28	2,300	10,53	28	2,075	6,90	27	3,590	22,99	24	1,310	17,35
28	2,010	26,50	29	1,265	13,70	29	2,560	13,65	29	2,140	17,17	28	2,480	8,61	25	1,655	13,52
30	2,130	13,18	30	1,445	18,30	30	2,645	13,87	30	4,560	19,91	29	2,280	19,97	29	1,960	35,04

BII

751	PESO	REND.	209	PESO	REND.	Test.	PESO	REND.	496	PESO	REND.	292	PESO	REND.	234	PESO	REND.
2	2,695	30,02	2	2,345	16,17	4	2,360	47,02	6	2,460	34,11	2	2,55	28,37	1	1,465	25,72
4	2,51	23,10	4	2,880	38,41	10	2,185	37,51	8	1,920	23,80	5	2,32	16,70	6	1,000	26,62
15	2,59	64,02	8	1,695	11,63	12	3,320	41,84	9	3,055	60,03	8	2,24	29,61	7	1,885	42,61
18	2,69	12,67	9	2,085	18,23	13	2,635	20,52	10	1,980	10,62	13	1,62	17,34	8	1,725	18,36
19	2,815	36,63	12	1,830	9,74	14	2,715	45,68	11	2,170	60,12	14	2,525	41,92	12	2,145	23,26
23	2,065	50,18	20	1,800	20,67	15	2,660	26,60	14	2,255	20,70	21	1,50	3,53	17	1,860	43,15
24	2,035	10,31	23	1,965	39,97	17	3,015	36,97	15	1,830	43,99	23	2,04	10,80	19	2,070	37,01
27	2,46	26,31	24	1,985	14,82	24	2,500	1,50	16	2,655	34,62	24	2,50	25,82	26	1,600	32,02
28	2,8	44,15	27	3,015	41,76	25	2,115	27,66	17	1,540	15,08	25	2,32	14,56	27	2,100	67,34
29	2,36	16,19	29	3,380	44,13	28	2,405	53,18	20	1,395	14,53	26	2,325	34,64	29	3,115	74,22

216	PESO	REND.	319	PESO	REND.	349	PESO	REND.	34	PESO	REND.	807	PESO	REND.	325	PESO	REND.
14	1,925	14,50	7	1,57	4,91	2	2,14	12,97	8	2,040	20,84	1	2,445	51,18	1	2,375	47,25
17	2,990	43,50	10	1,625	2,15	3	1,845	15,29	9	2,230	6,15	2	2,270	24,75	5	2,375	26,96
19	2,935	8,06	13	1,68	9,53	4	1,94	21,80	10	1,785	9,54	4	1,520	22,67	7	1,340	7,92
24	1,885	26,45	19	1,61	21,73	5	2,435	12,51	14	2,160	17,66	10	2,785	29,87	10	2,870	53,07
25	2,330	13,82	22	1,895	19,06	7	2,465	2,90	19	2,720	12,48	13	2,585	42,50	16	2,360	41,00
26	2,695	12,69	23	1,49	48,51	9	2,62	15,16	20	2,165	6,79	14	4,050	35,65	17	1,550	20,00
27	1,960	16,25	24	1,85	44,72	12	2,215	21,20	22	1,920	32,01	25	2,365	69,81	19	2,550	8,76
28	2,550	24,46	25	1,88	29,83	18	2,265	22,17	23	2,575	10,93	26	3,055	52,09	21	1,680	25,03
29	2,325	46,83	28	1,74	36,91	19	3,055	22,04	25	1,495	9,62	28	2,825	44,48	22	1,825	45,57
30	1,835	60,83	30	1,665	29,71	23	2,085	21,95	27	1,805	15,18	29	2,245	21,00	26	2,080	54,19

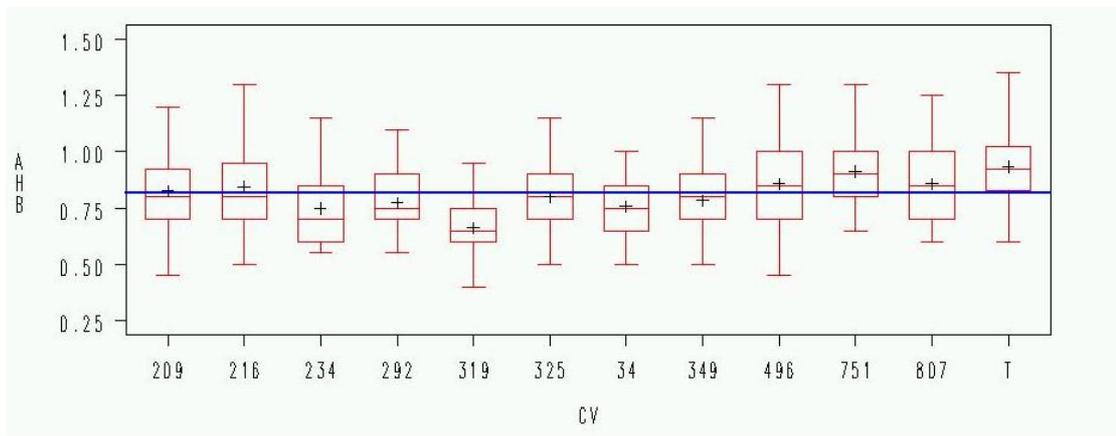


Figura 15. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de AHB

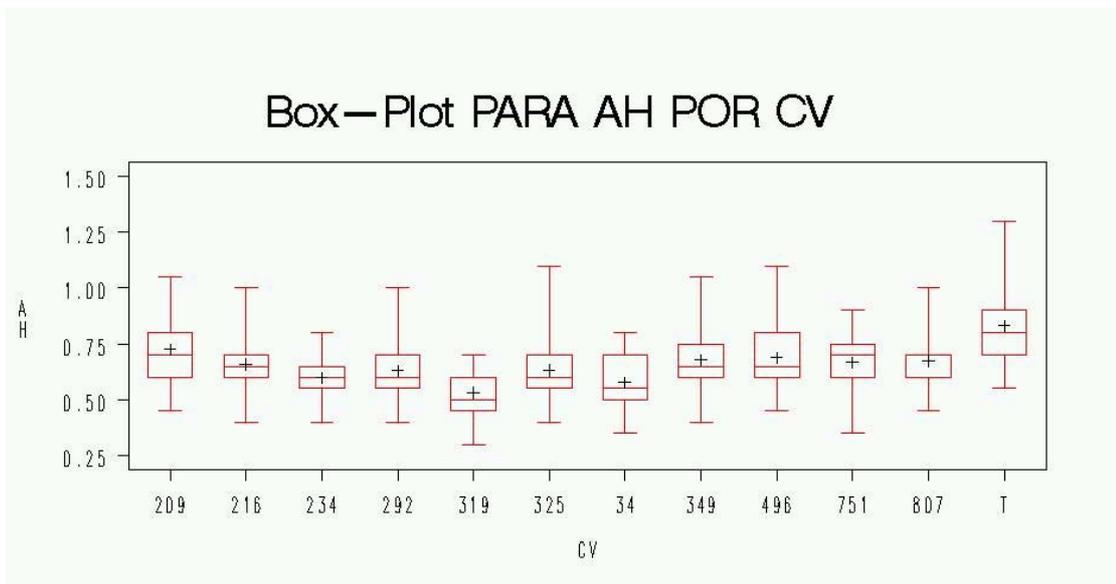


Figura 16. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de AH

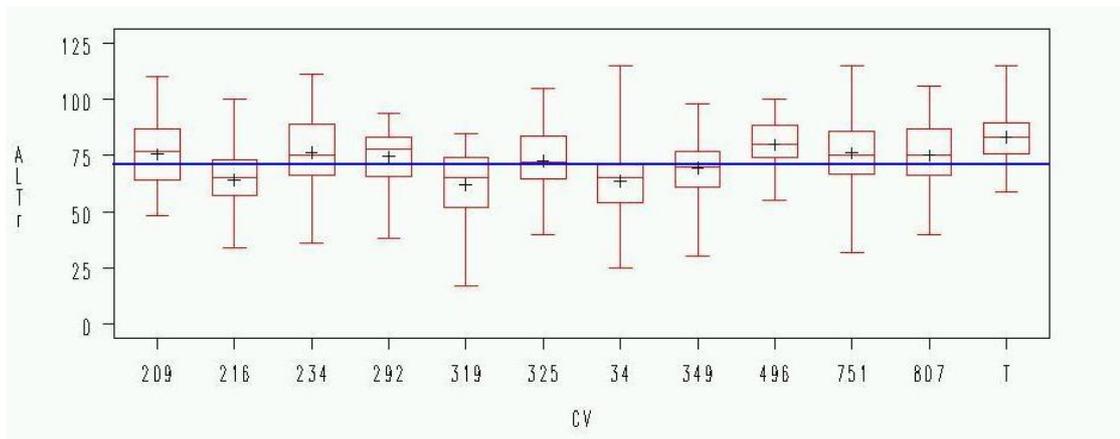


Figura 17. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de ALTr

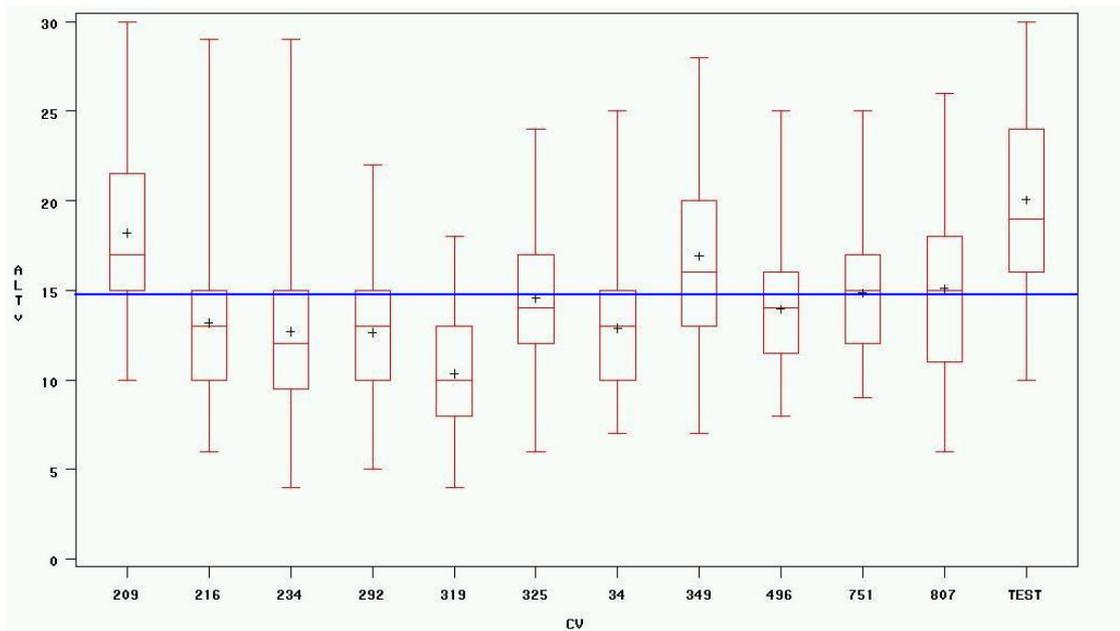


Figura 18. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de ALTv

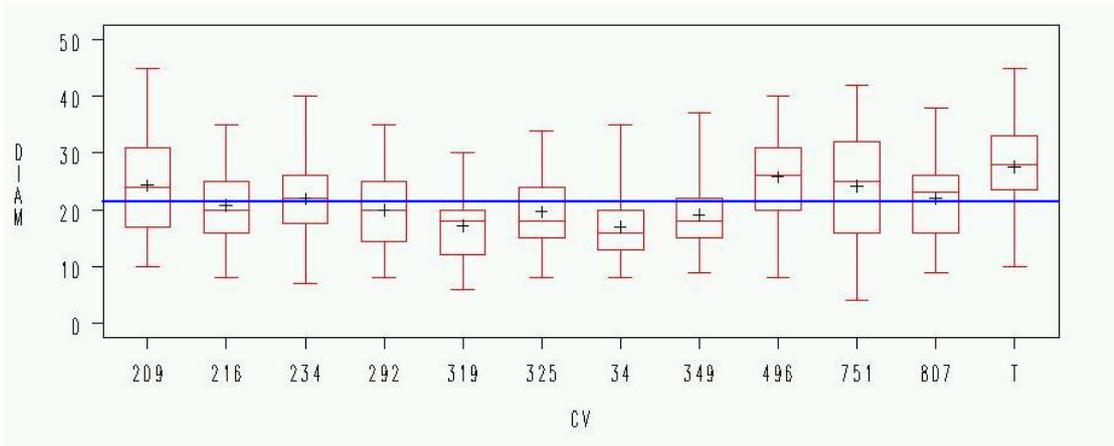


Figura 19. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de DIAM

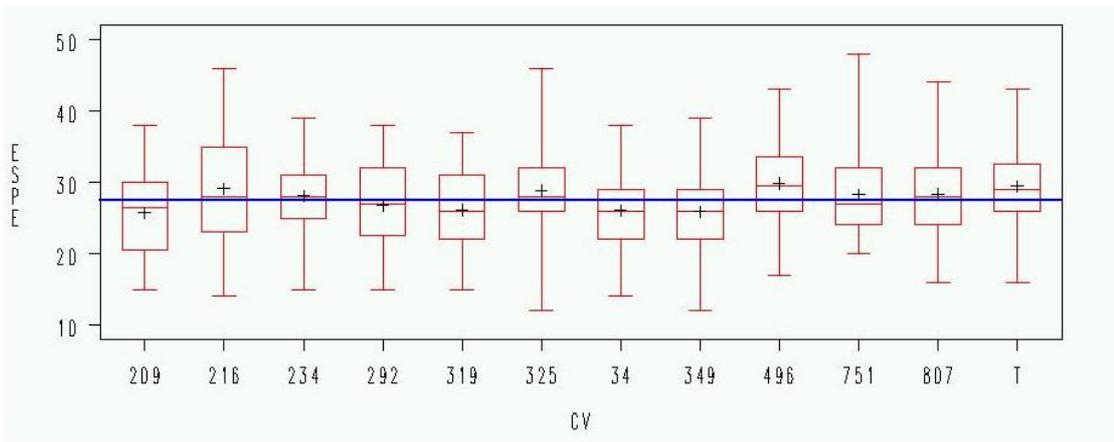


Figura 20. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de ESPE

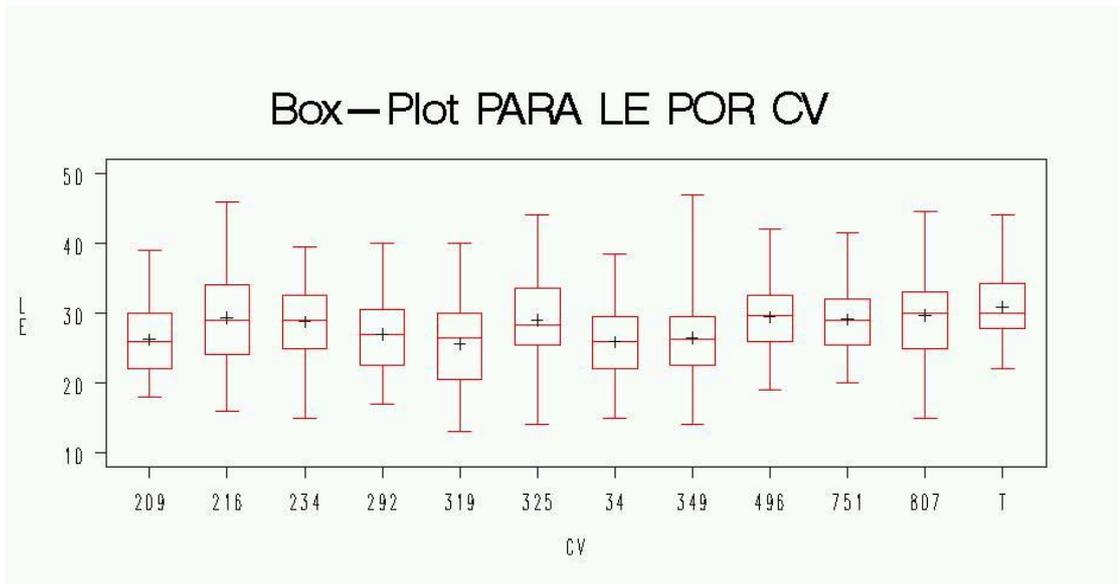


Figura 21. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de LE

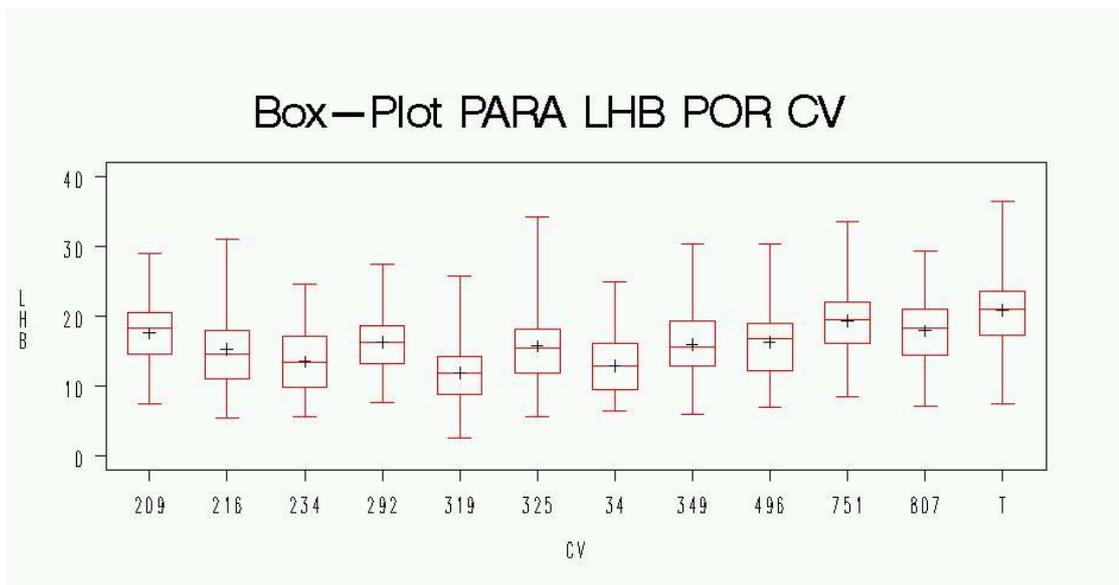


Figura 22. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de LHB

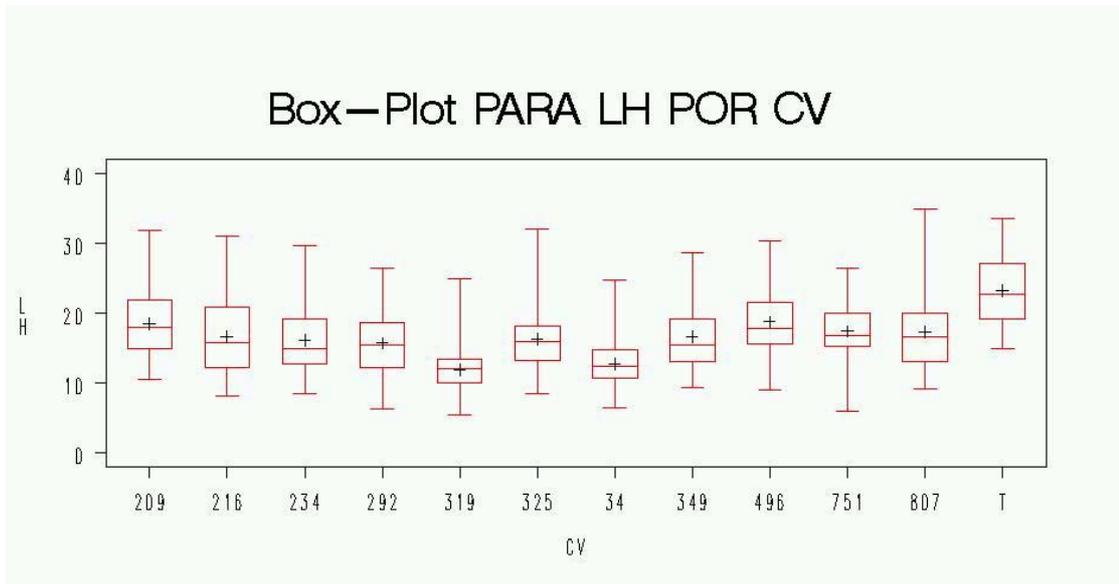


Figura 23. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de LH

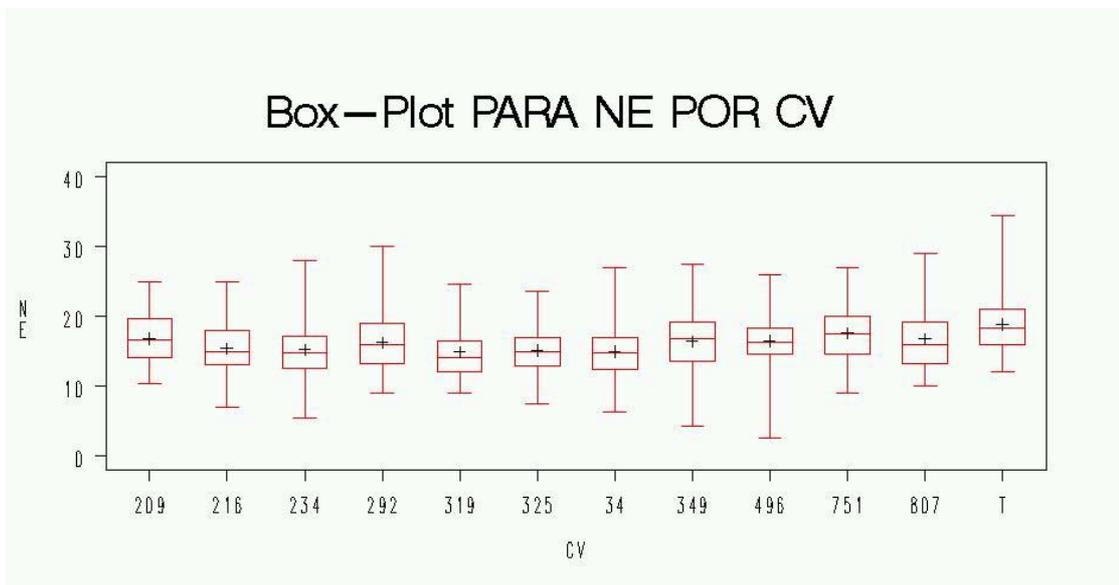


Figura 24. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de NE

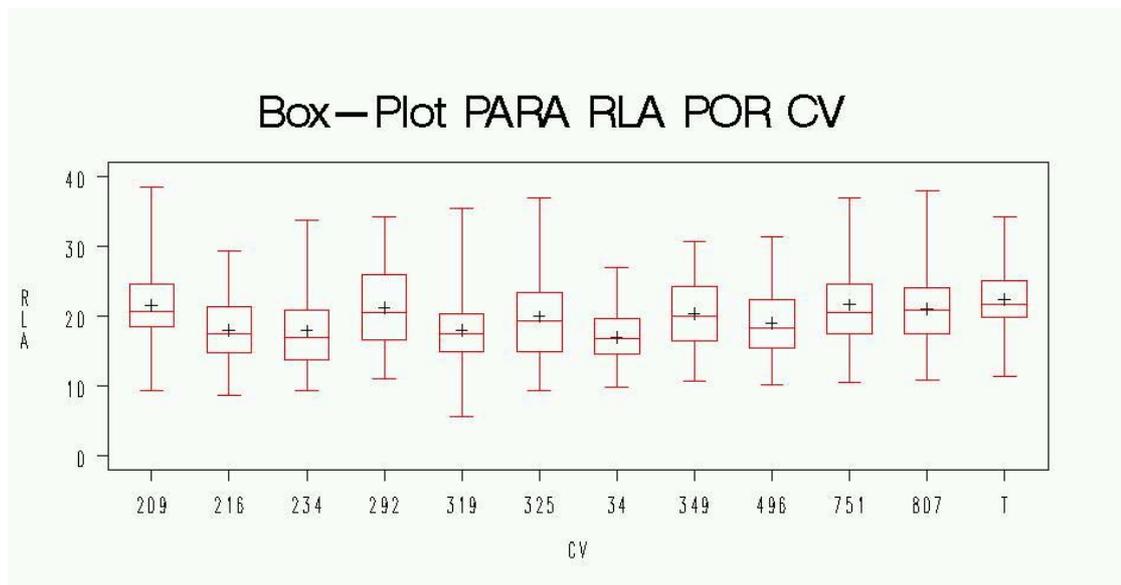


Figura 25. Media, mediana, cuartil 1 y 3 de cada lote y promedio general de RLA

Cuadro 5. Diferencia de medias de altura en estado vegetativo (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
209-T	-1,833	
349-T	-3,152	
807-T	-4,948	***
751-T	-5,203	***
325-T	-5,483	***
496-T	-6,100	***
216-T	-6,867	***
34-T	-7,169	***
234-T	-7,333	***
292-T	-7,400	***
319-T	-9,717	***
VCDunnett	3,26913	

Cuadro 6. Variable Diámetro (cm.)

Lote	Diámetro
Test	27,583 a
496	25,817 a
209	24,350 a
751	24,186 a
807	22,119 a
234	22,017 a
216	20,767 a
292	19,950 a
325	19,617 a
349	19,085 a
319	17,183 a
34	17,034 a
Media	21,642
CV	121,357
P>F	0,5278
MDS (Tukey)	19,426

Cuadro 7. Variable Altura en estado reproductivo (cm.)

Lote	Altura rep.
Test	83,400 a
496	79,767 a
234	76,322 a
751	76,254 a
209	75,667 a
807	75,220 a
292	74,683 a
325	72,817 a
349	69,627 a
216	64,153 a
34	63,632 a
319	62,069 a
Media	72,801
CV	51,273
P>F	0,1606
MDS (Tukey)	27,727

Cuadro 8. Variable largo de espiga (cm.)

Lote	Largo E.
Test	30,872 a
807	29,751 a
496	29,417 a
216	29,407 a
751	29,098 a
325	29,025 a
234	28,749 a
292	26,958 a
349	26,503 a
209	26,258 a
34	25,877 a
319	25,672 a
Media	28,132
CV	47,117
P>F	0,4796
MDS (Tukey)	9,8459

Cuadro 9. Variable espiguillas por espiga

Lote	E. * Espiga
496	29,867 a
Test	29,433 a
216	29,136 a
325	28,900 a
807	28,373 a
751	28,305 a
234	28,102 a
292	26,867 a
319	26,155 a
34	26,035 a
349	25,898 a
209	25,733 a
Media	27,734
CV	48,153
P>F	0,6731
MDS (Tukey)	9,9197

Cuadro 10. Diferencia de medias de rendimiento (gr.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
496-T	3,210	
807-T	1,714	
751-T	0,632	
325-T	-0,121	
234-T	-1,426	
292-T	-1,161	
216-T	-5,300	
319-T	-7,620	
209-T	-8,421	
349-T	-10,943	
34-T	-13,805	
VCDunnett	3,26805	
MDS	20,888	

Cuadro 11. Diferencia de medias de diámetro de planta (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
496-T	-1,767	
209-T	-3,233	
751-T	-3,397	
807-T	-5,465	
234-T	-5,567	
216-T	-6,817	
292-T	-7,633	
325-T	-7,967	
349-T	-8,499	
319-T	-10,400	
34-T	-10,549	
VCDunnett	3,26913	

Cuadro 12. Diferencia de medias de altura en estado reproductivo (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
496-T	-3,633	
234-T	-7,078	
751-T	-7,146	
209-T	-7,733	
807-T	-8,180	
292-T	-8,717	
325-T	-10,583	
349-T	-13,773	
216-T	-19,247	
34-T	-19,768	
319-T	-21,331	
VCDunnett	3,27077	

Cuadro 13. Diferencia de medias de largo de espiga (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
807-T	-1,121	
496-T	-1,455	
216-T	-1,465	
751-T	-1,773	
325-T	-1,847	
234-T	-2,123	
292-T	-3,913	
349-T	-4,368	
209-T	-4,613	
34-T	-4,994	
319-T	-5,199	
VCDunnett	3,27077	

Cuadro 14. Diferencia de medias de espiguillas por espiga de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. Entre medias	Significancia
496-T	0,433	
216-T	-0,298	
325-T	-0,533	
807-T	-1,060	
751-T	-1,128	
234-T	-1,332	
292-T	-2,567	
319-T	-3,278	
34-T	-3,398	
349-T	-3,535	
209-T	-3,700	
VCDunnett	3,27077	

Cuadro 15. Variable distancia entre en último nudo y la base de la espiga (cm.)

Lote	Dist. N.E.
Test	18,8533 a
751	17,6068 ab
209	16,8433 ab
807	16,7644 ab
496	16,5167 ab
349	16,3966 ab
292	16,2117 ab
216	15,3966 ab
234	15,2102 ab
325	15,1267 ab
34	14,9517 b
319	14,8897 b
Media	16,231
CV	31,722
P>F	0,0323
MDS (Tukey)	3,8215

Cuadro 16. Diferencia de medias de distancia entre en último nudo y la base de la espiga (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
751-T	-1,247	
209-T	-2,010	
807-T	-2,089	
496-T	-2,337	
349-T	-2,457	
292-T	-2,642	
216-T	-3,457	***
234-T	-3,643	***
325-T	-3,727	***
34-T	-3,902	***
319-T	-3,964	***
VCDunnett	3,27049	

Cuadro 17. Diferencia de medias de ancho de hoja (cm.) de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
209-T	-0,10583	
496-T	-0,14333	***
349-T	-0,15538	***
807-T	-0,15708	***
751-T	-0,16470	***
216-T	-0,17250	***
325-T	-0,20083	***
292-T	-0,20167	***
234-T	-0,23417	***
34-T	-0,25538	***
319-T	-0,30167	***
VCDunnett	3,26913	

Cuadro 18. Diferencia de medias de peso de mil semillas de los lotes contra el testigo

Comparación	Dif. entre medias	Significancia
807-T	0,0467	
751-T	-0,0398	
209-T	-0,1393	
496-T	-0,1585	
349-T	-0,2310	
34-T	-0,3180	
292-T	-0,4248	
216-T	-0,4495	
325-T	-0,5220	
234-T	-0,7190	***
319-T	-0,8960	***
VCDunnett	3,26805	
MDS	0,5928	

Cuadro 19. Distribución de rankings en cada nivel para la variable porte en estado vegetativo

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Prob. Nivel 5	Media Est.
1	209	0.35833	0.33523	0.23872	0.05116	0.016554	2.03238
2	216	0.12611	0.24293	0.41155	0.15826	0.061155	2.78542
3	234	0.11006	0.22382	0.41914	0.17635	0.070641	2.87370
4	292	0.14288	0.26032	0.40109	0.14234	0.053382	2.70303
5	319	0.10280	0.21431	0.42142	0.18565	0.075824	2.91739
6	325	0.25324	0.32561	0.31432	0.07986	0.026971	2.30171
7	34	0.19903	0.30274	0.35790	0.10388	0.036451	2.47599
8	349	0.38113	0.33283	0.22424	0.04676	0.015034	1.98173
9	496	0.08185	0.18356	0.42186	0.21734	0.095387	3.06084
10	751	0.12480	0.24146	0.41227	0.15962	0.061843	2.79224
11	807	0.20078	0.30373	0.35647	0.10295	0.036068	2.46979
12	TEST.	0.34663	0.33593	0.24641	0.05362	0.017410	2.05924

Cuadro 20. Distribución de rankings en cada nivel para la variable porte en estado reproductivo

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Prob. Nivel 5	Media Est.
1	209	0.38288	0.43218	0.15621	0.026700	.002020722	1.83279
2	216	0.32719	0.44831	0.18814	0.033779	.002576695	1.93624
3	234	0.50372	0.37447	0.10405	0.016519	.001236183	1.63707
4	292	0.19701	0.43840	0.29502	0.064483	.005094469	2.24226
5	319	0.35580	0.44109	0.17097	0.029881	.002269462	1.88174
6	325	0.36339	0.43878	0.16669	0.028944	.002195988	1.86778
7	34	0.43949	0.40830	0.12935	0.021264	.001599647	1.73718
8	349	0.34087	0.44516	0.17971	0.031837	.002423318	1.90978
9	496	0.30676	0.45189	0.20154	0.036980	.002830982	1.97723
10	751	0.18032	0.42946	0.31324	0.071302	.005678342	2.29256
11	807	0.34822	0.44323	0.17535	0.030855	.002345927	1.89587
12	TEST.	0.29842	0.45291	0.20731	0.038404	.002944770	1.99453

Cuadro 21. Distribución de rankings en cada nivel para la variable color

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Media Est
1	209	0.059989	0.50359	0.39786	0.03857	2.41500
2	216	0.012255	0.18843	0.62828	0.17104	2.95810
3	234	0.009882	0.15814	0.62784	0.20414	3.02624
4	292	0.010982	0.17249	0.62918	0.18735	2.99289
5	319	0.012558	0.19212	0.62776	0.16756	2.95032
6	325	0.017461	0.24704	0.60959	0.12591	2.84395
7	34	0.007389	0.12352	0.61319	0.25590	3.11759
8	349	0.021335	0.28477	0.58881	0.10509	2.77765
9	496	0.031930	0.36835	0.52770	0.07202	2.63982
10	751	0.017995	0.25251	0.60692	0.12258	2.83408
11	807	0.016842	0.24057	0.61258	0.13001	2.85575
12	TEST.	0.048732	0.46026	0.44342	0.04759	2.48987

Cuadro 22. Distribución de rankings en cada nivel para la variable vigor de planta

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Prob. Nivel 5	Media Est.
1	209	0.024586	0.09014	0.34149	0.48933	0.05446	3.45894
2	216	0.008086	0.03214	0.17320	0.63541	0.15117	3.88943
3	234	0.004562	0.01846	0.10932	0.62707	0.24059	4.08066
4	292	0.007494	0.02987	0.16346	0.63790	0.16127	3.91558
5	319	0.002135	0.00874	0.05559	0.52926	0.40427	4.32479
6	325	0.009007	0.03564	0.18761	0.63001	0.13773	3.85182
7	34	0.002804	0.01145	0.07133	0.57392	0.34050	4.23786
8	349	0.010662	0.04184	0.21150	0.61728	0.11872	3.79157
9	496	0.018847	0.07103	0.30011	0.53974	0.07027	3.57155
10	751	0.011418	0.04463	0.22162	0.61066	0.11166	3.76652
11	807	0.014125	0.05448	0.25428	0.58510	0.09201	3.68639
12	TEST.	0.067984	0.20475	0.43553	0.27222	0.01951	2.97053

Cuadro 23. Distribución de rankings en cada nivel para la variable macollaje

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Prob. Nivel 5	Media Est.
1	209	0.004937	0.021364	0.15271	0.58414	0.23685	4.02660
2	216	0.008415	0.035746	0.22748	0.57478	0.15358	3.82937
3	234	0.011779	0.049157	0.28281	0.54184	0.11441	3.69795
4	292	0.008008	0.034092	0.21977	0.57794	0.16018	3.84820
5	319	0.006560	0.028142	0.19022	0.58598	0.18910	3.92291
6	325	0.006296	0.027048	0.18446	0.58669	0.19551	3.93807
7	34	0.002029	0.008918	0.07107	0.48700	0.43099	4.33601
8	349	0.002922	0.012780	0.09838	0.54144	0.34448	4.21177
9	496	0.017049	0.069231	0.34626	0.48592	0.08154	3.54567
10	751	0.016326	0.066543	0.33889	0.49334	0.08490	3.56395
11	807	0.006515	0.027954	0.18924	0.58613	0.19017	3.92548
12	TEST.	0.005804	0.025000	0.17337	0.58711	0.20871	3.96793

Cuadro 24. Distribución de rankings en cada nivel para la variable susceptibilidad a roya

Obs.	Lote	Prob. Nivel 1	Prob. Nivel 2	Prob. Nivel 3	Prob. Nivel 4	Media Est
1	209	0.74077	0.13773	0.07478	0.046732	1.42747
2	216	0.73680	0.13948	0.07606	0.047657	1.43458
3	234	0.93289	0.03946	0.01767	0.009977	1.10473
4	292	0.87447	0.07184	0.03398	0.019713	1.19893
5	319	0.85455	0.08242	0.03974	0.023289	1.23178
6	325	0.96863	0.01873	0.00812	0.004517	1.04853
7	34	0.77608	0.12156	0.06352	0.038848	1.36513
8	349	0.70610	0.15263	0.08618	0.055095	1.49027
9	496	0.60056	0.19128	0.12293	0.085231	1.69283
10	751	0.74939	0.13387	0.07199	0.044749	1.41210
11	807	0.86928	0.07462	0.03547	0.020631	1.20745
12	TEST.	0.78340	0.11809	0.06123	0.037288	1.35241

Cuadro 25. Valores de frecuencia para la variable susceptibilidad a roya

Valores	Frec.
1	562
2	76
3	42
4	27

Cuadro 26. Valores de frecuencia para la variable color

Valores	Frec.
1	16
2	192
3	411
4	96



Figura 26. Planta tetraploide perteneciente al lote 216.

Cuadro 27. Valores de frecuencia para la variable macollaje

Valores	Frec.
1	6
2	25
3	149
4	391
5	145

Cuadro 28. Valores de frecuencia para la variable vigor

Valores	Frec.
1	11
2	39
3	150
4	401
5	115

Cuadro 29. Valores de frecuencia para la variable porte en estado vegetativo

Valores	Frec.
1	146
2	197
3	251
4	88
5	34

Cuadro 30. Valores de frecuencia para la variable porte en estado reproductivo

Valores	Frec.
1	240
2	306
3	136
4	26
5	2

Cuadro 31. Determinación del peso de los componentes 1 y 2 según cada variable

Variable	Prin 1	Prin 2
ALTv	0.282610	-.267392
DIAM	0.305358	0.119889
LH	0.325251	0.039613
AH	0.318781	-.094795
AHB	0.323642	-.050564
RLA	0.278058	-.190982
NE	0.315326	-.117121
ALTr	0.294884	0.103800
LE	0.232354	0.414665
ESPE	0.172420	0.516314
DAF	-.238422	0.419045
PMS	0.270304	-.150185
Rend.	0.193404	0.450964
LHB	0.3104	-0,0453

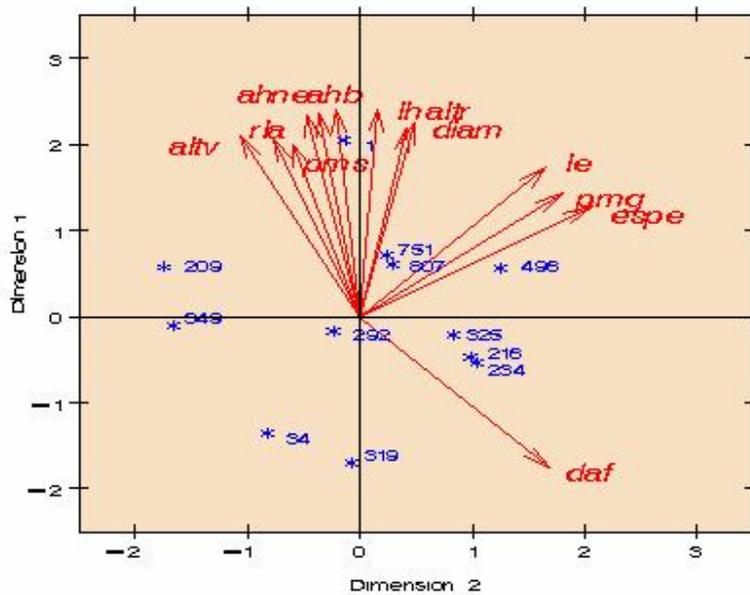


Figura 27. Biplot de componentes principales con lotes y variables cuantitativas

Cuadro 34. Matriz de distancias

Obs	Dist1	Dist2	Dist3	Dist4	Dist5	Dist6	Dist7	Dist8	Dist9	Dist10	Dist11	Dist12
1	0.00000
2	0.24204	0.00000
3	0.18420	0.23289	0.00000
4	0.16885	0.29308	0.14506	0.00000
5	0.19166	0.25524	0.11260	0.12579	0.00000
6	0.13639	0.29319	0.15378	0.14255	0.16759	0.00000
7	0.19323	0.18988	0.14965	0.14362	0.12916	0.18524	0.00000
8	0.19807	0.11181	0.16467	0.28487	0.20531	0.24789	0.15935	0.00000
9	0.33248	0.21354	0.15660	0.23874	0.21513	0.28011	0.23133	0.21026	0.00000	.	.	.
10	0.29420	0.20510	0.14145	0.21012	0.14674	0.26097	0.18789	0.19978	0.11101	0.00000	.	.
11	0.23384	0.16150	0.15155	0.18455	0.12975	0.21018	0.09857	0.16372	0.17360	0.12224	0.0000	.
12	0.35040	0.14770	0.27022	0.34279	0.25007	0.36024	0.22284	0.21024	0.21176	0.18267	0.16721	.

Cuadro 35. Comportamiento de los eigenvectores para cada variable

Variable	Prin 1	Prin 2
Altv	0,269014	-0,260430
DIAM	0,287880	0,127180
LH	0,307417	0,047317
AH	0,302641	-0,087442
AHB	0,310419	-0,045337
RLA	0,268150	-0,186734
NE	0,301429	-0,111086
Altr	0,277656	0,111054
LE	0,218930	0,418730
ESPE	0,160935	0,519296
Daf	-0,227582	0,453833
PMS	0,259409	-0,145457
Rend	0,182114	0,453833
LHB	0,310419	-0,045337