

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN MORFOGENÉTICA DE *Paspalum dilatatum* Poir.

por

Diego F. MICHELINI GARICÖITS

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2010.

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. (Ph.D.) Pablo Rafael Speranza Gastaldi

.....

Ing. Agr. (M.Sc.) Luis Viega Cáceres

.....

Ing. Agr. (Ph.D.) Lucía Gutiérrez Chacón

Fecha: -----

Autor:

Diego F. Michelini Garicõits

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, responsables de mi oportunidad de vivir. A mis hermanos, con quienes comparto la dicha familiar.

A todos aquellos seres queridos, quienes son motivo fundamental de mis logros personales.

TABLA DE CONTENIDO

| | Página |
|--|-----------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN..... | II |
| AGRADECIMIENTOS..... | III |
| LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES | VI |
| 1. <u>INTRODUCCIÓN</u>..... | 1 |
| 1.1. <u>OBJETIVOS</u> | 2 |
| 1.1.1. <u>Objetivos generales</u> | 2 |
| 1.1.2. <u>Objetivos específicos</u> | 3 |
| 2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> | 4 |
| 2.1. <u>INTRODUCCIÓN</u> | 4 |
| 2.2. <u>VARIABILIDAD GENÉTICA</u> | 7 |
| 2.2.1. <u>Complejos poliploides - agámicos</u> | 7 |
| 2.2.2. <u>Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad fenotípica</u> | 8 |
| 2.2.2.1. <u>Efectos nucleotípicos</u> | 9 |
| 2.2.2.2. <u>Efectos de dosis alélica</u> | 9 |
| 2.2.2.3. <u>Incremento en la heterocigosis</u> | 10 |
| 2.2.3. <u>Tipos poliploides</u> | 10 |
| 2.3. <u>MORFOGÉNESIS</u> | 12 |
| 2.3.2. <u>Morfogénesis</u> | 12 |
| 2.3.2.1. <u>Estructura de una planta gramínea</u> | 13 |
| 2.3.2.2. <u>Morfogénesis aérea de plantas individuales</u> | 16 |
| 2.4. <u>EL MODELO DE ESTUDIO</u> | 30 |
| 2.5. <u>HIPÓTESIS</u> | 36 |
| 3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> | 36 |
| 3.1. <u>CARACTERÍSTICAS EXPERIMENTALES Y MATERIAL VEGETAL</u> | 37 |
| 3.2. <u>VARIABLES METEOROLÓGICAS</u> | 39 |
| 3.3. <u>VARIABLES VEGETALES</u> | 40 |
| 3.3.1. <u>Medidas morfométricas</u> | 40 |
| 3.3.2. <u>Cálculo de variables morfogenéticas</u> | 41 |
| 3.4. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u> | 42 |
| 3.4.1. <u>Hipótesis</u> | 42 |
| 3.4.2. <u>Modelos estadísticos</u> | 43 |
| 4. <u>RESULTADOS</u>..... | 45 |

| | |
|---|-----|
| 4.1. FILOCRÓN..... | 45 |
| 4.1.1. <u>Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad genética para filocrón</u> | 45 |
| 4.1.2. <u>Efecto del grupo genético sobre la variabilidad genética para filocrón</u> | 46 |
| 4.1.3. <u>Filocrón para los 39 genotipos</u> | 48 |
| 4.2. TASA DE ELONGACIÓN FOLIAR..... | 49 |
| 4.2.1. <u>Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad genética en tasa de elongación foliar</u> | 49 |
| 4.2.2. <u>Efecto del grupo genético sobre la variabilidad genética para TEF</u> | 50 |
| 4.2.3. <u>Valores de TEF para los 39 genotipos</u> | 52 |
| 5. <u>DISCUSIÓN</u> | 53 |
| 5.1. EFECTOS DEL NIVEL DE PLOIDÍA SOBRE LA MORFOGÉNESIS..... | 53 |
| 5.1.1. <u>Efecto del nivel de ploidía sobre el filocrón</u> | 53 |
| 5.1.1.1. Validación de los valores de filocrón para los distintos niveles de ploidía..... | 53 |
| 5.1.1.2. Efecto del nivel de ploidía sobre el filocrón..... | 56 |
| 5.1.2. <u>Efecto del nivel de ploidía sobre la TEF</u> | 58 |
| 5.2. EFECTOS DEL GRUPO GENÉTICO SOBRE LA MORFOGÉNESIS..... | 60 |
| 5.2.1. <u>Efectos del grupo genético sobre el filocrón</u> | 60 |
| 5.2.2. <u>Efectos del grupo genético sobre la TEF</u> | 62 |
| 5.3. VALORES GENERALES DE FILOCRÓN Y TEF..... | 63 |
| 5.4. CONSIDERACIONES GENERALES..... | 64 |
| 6. <u>CONCLUSIONES</u> | 68 |
| 7. <u>RESUMEN</u> | 69 |
| 8. <u>SUMMARY</u> | 71 |
| 9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> | 73 |
| 10. <u>ANEXOS</u> | 108 |

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

| Cuadro No. | Página |
|---|--------|
| 1. Cantidad de materiales genéticos por tipo de material genético, su nivel de ploidía, y grupo genético al cual pertenecen, para el caso de los pentaploides | 38 |
| 2. Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto del nivel de ploidía sobre el filocrón. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(nivel de ploidía)..... | 45 |
| 3. Media ajustada de filocrón para el factor nivel de ploidía..... | 46 |
| 4. Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto del grupo genético sobre el filocrón. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(grupo)..... | 47 |
| 5. Media ajustada de filocrón para el factor grupo genético y prueba de comparación de medias. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p=0.05$)..... | 48 |
| 6. Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto nivel de ploidía sobre TEF. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(ploidía)..... | 49 |
| 7. Media ajustada de TEF para el factor nivel de ploidía..... | 50 |
| 8. Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto grupo genético sobre TEF. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(grupo)..... | 51 |

| | |
|--|----|
| 9. Media ajustada de TEF para el factor grupo genético y prueba de comparación de medias. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p=0.05$)..... | 51 |
|--|----|

Figura No.

| | |
|---|----|
| 1. Representación esquemática de los orígenes genéticos de los biotipos recombinantes pentaploides y biotipos hexaploides. | 34 |
|---|----|

1 INTRODUCCION

Paspalum dilatatum Poir. es una gramínea estival perenne, de tipo reproductivo apomítico, con una amplia distribución mundial y con su centro de origen ubicado en la región comprendida por Uruguay, centro – este de Argentina y sur de Brasil. Dicha especie es reconocida por su aptitud forrajera y su funcionalidad ecológica en los sistemas de producción con base pastoril. Si bien *P. dilatatum* Poir. ha sido motivo de esfuerzos de domesticación y mejoramiento, no se han podido resolver sus limitantes agronómicas, entre ellas la pobre producción de semilla. Se ha sugerido que uno de los problemas más importantes de la ineficacia en la solución de dichas limitantes es la insuficiente exploración de la variabilidad genética en la especie. Esto es debido al desconocimiento de la relación entre su tipo reproductivo y las características genéticas de los materiales que la componen, con los niveles de variabilidad posibles y su distribución. La variabilidad genética existente en esta especie responde a los patrones de variabilidad y de distribución geográfica de la misma, característicos de los complejos apomíticos poliploides. *P. dilatatum* Poir. comprende citotipos alotetraploides sexuales, alopentaploides y alohexaploides apomíticos. Utilizando marcadores moleculares recientemente se han identificado varios clones dentro del biotipo alopentaploide de la especie “común”, revelando un nivel de variabilidad genética mucho mayor al conocido. Estos clones muestran contribuciones genéticas de diferentes biotipos sexuales y fueron agrupados en base al biotipo involucrado.

Las características morfogenéticas son atributos vegetales controlados genéticamente (Gillet et al., 1984) que definen el flujo de tejidos y la estructura de los tapices vegetales. Filocrón y Tasa de Elongación Foliar son dos características morfogenéticas utilizadas para describir y entender los procesos de generación del área foliar y producción de biomasa en respuesta a distintos factores ambientales y antrópicos. También son herramientas de descripción de la variabilidad genética y su respuesta a factores de stress en germoplasma de interés para el mejoramiento genético

vegetal. Además se utilizan para entender y ajustar la respuesta de distintas medidas de manejo sobre la variabilidad genética en especies de interés agronómico y ecológico. Para esta especie se han realizado trabajos preliminares de caracterización morfogenética los cuales demostraron ciertos niveles de variabilidad fenotípica en la misma, aunque dicha variabilidad no ha sido relacionada con la variabilidad genética.

El germoplasma de la colección *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía, UdelaR, en función de su caracterización genética con marcadores moleculares, ha sido individualizado en clones genéticamente distintos. Es posible de que existan nuevos niveles de variabilidad morfogenética en relación a la variabilidad genética definida. Se propone realizar una caracterización morfogenética para la colección instalada a campo, la cual es una muestra representativa del nivel de variabilidad genética existente en la especie. A través de la cuantificación de la Tasa de Elongación Foliar y el Filocrón, se pretende describir la distribución y magnitud de la variabilidad fenotípica en función de los distintos niveles de ploidía, y de los grupos genéticos existentes en la especie.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos generales

Describir la diversidad genética actualmente existente en la colección de *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía a través de una caracterización morfogenética. Caracterizar la distribución de la variabilidad fenotípica existente en dicha colección a través de estas características fenotípicas.

1.1.2 Objetivos específicos

- Analizar la distribución de la variabilidad fenotípica para los distintos niveles de ploidía de la colección de *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía, para las características morfológicas Filocrón y Tasa de Elongación Foliar.

- Analizar la distribución de la variabilidad fenotípica para los distintos grupos genéticos dentro del citotipo pentaploide de la colección *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía, para las características morfológicas Filocrón y Tasa de Elongación Foliar.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 INTRODUCCIÓN

Se ha propuesto que las especies vegetales de reproducción apomíctica se caracterizan por presentar un patrón geográfico definido en la estructura de su diversidad genética, con su epicentro de variabilidad en función principalmente de la ubicación geográfica de las fuentes de sexualidad compatibles y activas, donde se generan nuevos clones genéticamente diversos (Speranza 2005b, Hörandl y Paun 2006). Por otra parte la apomixis está usualmente asociada a la poliploidía (Savidan 2000, Richards 2003). Esto agrega un nuevo nivel de variabilidad genética a los complejos poliploides agámicos a través de los efectos nucleotípicos, de incremento de dosis alélica y de incremento de la heterocigosis, resultantes de la variación en la cantidad de ADN genómico (Hancock, 2004) como consecuencia del aumento en el número de genomios. Ambas fuentes de diversidad genética ocurren en los complejos poliploides agámicos. En la familia Poaceae este fenómeno sucede de manera recurrente (Poehlman, 2006) y el grupo Dilatata, del género *Paspalum* es un buen ejemplo de ello, con *P. dilatatum* Poir. como principal modelo genético para las interacciones entre la poliploidía y la apomixis (Speranza, 2009). La especie *P. dilatatum* Poir. es una gramínea de ciclo de vida perenne, ciclo de crecimiento estival y síndrome fotosintético C4. Su constitución genética es alopentaploide y su tipo reproductivo apomíctico (Speranza y Mallosetti, 2007). Esta especie, con su centro de origen ubicado en la región comprendida por Uruguay, centro – este de Argentina y sur de Brasil, presenta una amplia distribución y valor productivo reconocido a nivel mundial (Rosengurt 1943, Pizarro 2002). Varios son los trabajos que validan su inclusión como alternativa forrajera en la región (Santiñaque 1979, Carámbula 2002). A nivel mundial se han desarrollado proyectos de mejoramiento en la especie (Schrauf 2003, Burson et al. 2009), con prospecciones y caracterizaciones de variabilidad fenotípica, pero sin una referencia explícita a la diversidad genética explorada (Cicardini et al. 1982, García et al. 2002, Venuto et al.

2003, Alonso y Monterrubianesi 2006, Couso et al. 2010). En estos programas no se han logrado solucionar las limitantes agronómicas inherentes a la especie como ser la pobre producción de semilla, la susceptibilidad al hongo *Claviceps paspali* Stevens & Hall, entre otras (Asociación Argentina De Producción Animal, 2003). En el grupo Dilatata se han realizado trabajos recientes de caracterización de la variabilidad genética con marcadores moleculares de elevada precisión. Estos identifican nuevos niveles de variabilidad genética para el grupo, y definen patrones de distribución geográfica de la misma (Speranza, 2005a, 2005b). Es importante corresponder estos niveles de variabilidad genética a variabilidad fenotípica relevante a través de caracterizaciones relacionadas con los procesos de crecimiento y desarrollo ya que estos determinan características agroecológicas de importancia para especies de valor productivo y ecológico.

Crecimiento y desarrollo son dos procesos distintos pero íntimamente relacionados en los ciclos de vida de una célula, órgano, planta o cultivo. Dichos procesos se encuentran bajo control genético y son regulados por el ambiente (Wilhelm y McMaster, 1995). La morfogénesis vegetal es la dinámica de generación (génesis) y expansión de la forma de la planta (morphe) en el tiempo y el espacio (Chapman y Lemaire, 1993). A través del programa morfogenético las plantas determinan el funcionamiento y conexión de los procesos de desarrollo y crecimiento en coordinación con la generación de la forma vegetal (Durand et al., 1991). Debido a que los procesos morfogenéticos en gramíneas ocurren por la sucesiva generación, expansión y senescencia de los fitómeros de un macollo (McMaster, 2005) y los fitómeros son unidades elementales morfogenéticas, de naturaleza demográfica para las poblaciones vegetales de gramíneas (White, 1979), la morfogénesis aérea en las plantas gramíneas puede ser resumida a los procesos que ocurren en un macollo (Briske y Derner, 1998).

Tasa de aparición foliar (su inversa el filocrón) y tasa de elongación foliar (TEF) son características morfogenéticas que en interacción con factores ambientales

definen las características estructurales de la pastura y por ende el Índice de Área Foliar (IAF) (Lemaire y Chapman, 1996). Varios son los factores exógenos que afectan el filocrón (Wilhelm y McMaster, 1995). En ausencia de stress hídrico el nitrógeno y la temperatura son los factores que determinan el filocrón (Gastal, 1992). La respuesta lineal de la aparición de hojas de un genotipo a la temperatura, para rangos térmicos determinados, define que el filocrón sea una constante genética (Bonhomme 2000, McMaster 2005), por lo tanto este está genéticamente determinado (Wilhelm y McMaster, 1995). Distintos materiales genéticos tendrán distintos valores de filocrón, en función de sus características genéticas y génicas. Es de interés describir la variabilidad genética para la característica debido a la importancia que tiene la misma en estudios de simulación de las respuestas morfogénicas a la temperatura (Juskiw et al., 2001), para generación de medidas de manejo de pasturas (Guerra Bandinelli et al., 2003) o para visualizar adaptabilidad de determinadas especies o distintos genotipos a ambientes específicos (Schirmer de Mattos et al., 2005). También es una herramienta descriptiva para la identificación temprana de características de valor productivo en caracterizaciones fenotípicas de materiales genéticos de interés (Bahmani et al., 2000).

La TEF también interactúa con las demás características morfogénicas en la generación de las características estructurales de las gramíneas (Lemaire y Chapman, 1996). De forma similar que para el filocrón, TEF varía en gran medida frente a variaciones de temperatura y de disponibilidad de nitrógeno (Gastal, 1992), pero la misma está genéticamente determinada (Gillet et al., 1984). Variaciones genéticas debidas al incremento en la cantidad de ADN genómico tienen un efecto sobre el tamaño celular y por lo tanto sobre la dinámica celular a nivel meristemático, con lo cual la TEF varía para materiales de distintos niveles de ploidía. A su vez a medida que se explora la diversidad genética en especies de interés agronómico se encuentra variabilidad genética para esta característica debida a diversidad alélica. Por lo tanto es de especial interés conocer la variabilidad genética para esta característica por su efecto sobre la

productividad de las gramíneas forrajeras (Horst et al. 1978, Ghesquière et al. 1994, Bahmani et al. 2000).

2.2 VARIABILIDAD GENÉTICA

2.2.1 Complejos poliploides - agámicos

La apomixis o agamosperma es un mecanismo de reproducción asexual (agámica) a través de la producción de semillas (Nogler, 1984). Los diferentes tipos de apomixis están representados en distintas familias botánicas (Carman, 1997), principalmente en Asteraceae, Rosaceae y Poaceae (Hörandl, 2006). Las plantas perennes generalmente utilizan una combinación de los tres tipos reproductivos fundamentales para acompasar la estrategia reproductiva a las condiciones ecológicas cambiantes (Richards, 1990). La propensión a la reproducción asexual es una característica de muchas especies y está usualmente acompañada por el mantenimiento de la reproducción sexual residual (Asker y Jerling 1992, Richards 2003).

La creación de variabilidad genética en complejos apomícticos a través de la sexualidad residual es de distinta magnitud según el caso (Hörandl y Paun, 2006). Por otra parte la diversidad genética en estos complejos puede verse incrementada cuando están ubicados en el centro de origen de sus especies, donde la contraparte apomíctica se puede hibridar con biotipos sexuales compatibles (Daurelio et al. 2004, Speranza 2005b). Esto contribuye a generar las mayores incorporaciones de variabilidad genética en dichos complejos (Hörandl y Paun, 2006). La acumulación de mutaciones somáticas en los clones también colabora en la generación de variabilidad genética dentro de cada clon (Asker y Jerling 1992, Hörandl 2004). Es así que las poblaciones de especies apomícticas frecuentemente son multiclonales (Ellstrand y Roose 1987, Asker y Jerling 1992). Para el caso de la especie *P. dilatatum* Poir. la variabilidad genética está determinada por la participación de un clon principal de amplia distribución y por la

aparición de nuevos clones, generalmente en regiones geográficas donde existen las fuentes de sexualidad activas (Speranza, 2005b).

La poliploidía como evento evolutivo exitoso ocurre en mayor medida en el reino vegetal (Tamarin, 1996) donde esta sucede en al menos un 70% de las angiospermas (Masterson, 1994) y en un 95% de las pteridofitas (Grant, 1981). Más aún, la gran mayoría si no toda la macroflora considerada diploide es de origen paleopoliploide. La familia botánica Poaceae es un ejemplo del éxito evolutivo de la poliploidía (Levy y Feldman, 2002). La poliploidía puede ser originada a través de duplicaciones cromosómicas, pero en mayor medida por hibridaciones a través de gametos no reducidos (DeWet 1979, Bretagnolle y Thompson 1995). De esta manera la poliploidía resulta en la amplificación del contenido genómico haploide completo, mas allá de la diploidía (Hancock, 2004). Así como la poliploidía lograda a través de la duplicación somática es la vía de la sobrevivencia de hibridaciones interespecíficas que generan individuos con meiosis irregulares (Tamarin, 1996) también es la única alternativa evolutiva en plantas apomícticas que de manera diploide expresarían mutantes recesivos deletéreos en la fase gametofítica (Ozias Akins et al. 2003, Bicknell y Koltunow 2004). Es así que la propagación de híbridos neopoliploides de nivel de ploidía par o impar se ve facilitada por la apomixis (Richards, 2003). Por eso muchas veces la apomixis ocurre en conjunto con la poliploidía, (Savidan, 2000). En la familia Poaceae existen ejemplos de complejos poliploides y apomícticos, donde confluyen diversos niveles de ploidía y especies emparentadas sexuales y apomícticas (Harlan y de Wet 1963, Speranza 2005a, 2005b, Poehlman y Sleper 2006).

2.2.2 Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad fenotípica

Las Variaciones en el nivel de ploidía traen aparejadas cambios en el fenotipo vegetal debido básicamente a 3 tipos de efectos: efectos nucleotípicos, efectos de variaciones en las dosis alélicas, y de incremento en la heterocigosis.

2.2.2.1 Efectos nucleotípicos

El ADN nuclear influye en la definición fenotípica a través de la expresión de su contenido génico pero también a través de los efectos físicos de su volumen y masa. Existe una estrecha relación entre el contenido de ADN nuclear, tamaño y masa celular, y número de cloroplastos por célula guarda (Bennett, 1987). También las variaciones en el tamaño del genoma están positivamente correlacionadas con la duración del ciclo celular en la mitosis y meiosis, lo cual junto con el tamaño celular, interactúa en la definición de las tasas de desarrollo y ciclos de vida (Levin, 2002). Por otro lado algunas características de crecimiento como ser la extensión foliar están directamente correlacionadas al contenido de ADN nuclear debido a su relación con la dinámica de los ciclos celulares en los meristemas (Grime y Mowforth, 1982), lo cual resulta en un mayor peso y tamaño de órganos en vegetales poliploides (Cavallini, 1993)

2.2.2.2 Efectos de dosis alélica

El incremento en la cantidad de genomas en un genoma genera un incremento en la cantidad de copias de los genes. Por lo tanto, para un gen determinado las variaciones en las dosis alélicas, debidas a variaciones en el nivel de ploidía, generan la posibilidad de incrementar la variación potencial de los niveles de expresión genotípica, con incrementos en clases fenotípicas intermedias, pero también para niveles transgresivos (Guo et al. 1996, Osborn et al. 2003, Hancock 2004). Si bien los efectos a nivel fenotípico son erráticos, los efectos de dosis alélica suelen generar variaciones aditivas en niveles enzimáticos para distintos niveles de ploidía (Levin et al. 1979, Dean y Leech 1982) También se ha atribuido a efectos de dosis alélica a nivel poliploide la variación encontrada para características como fecha de floración (Schranz et al. 2002, Osborn 2004). Sin embargo este fenómeno de respuesta fenotípica al incremento de la dosis alélica en genes que tienen copias múltiples no es la regla en especies poliploides. En el proceso de diploidización que sufren los poliploides la redundancia genómica es reducida (Paterson 2004, Wang et al. 2005). Los genes duplicados se pueden perder, ser

retenidos o mantenidos como duplicaciones, sufriendo a menudo procesos de subfuncionalización o neofuncionalización (Adams y Wendel 2005, Taylor y Raes 2005).

2.2.2.3 Incremento en la heterocigosis

Otro de los factores a través del cual el incremento de ploidía genera efectos en el fenotipo es el incremento de la heterocigosis. La presencia de mayor diversidad alélica en niveles de ploidía mayores al diploide permite mayores niveles de heterocigosis en poliploides en comparación con los diploides, independiente del tipo de poliploide (Soltis y Soltis 2000, Udall y Wendel 2006)

2.2.3 Tipos poliploides

Las especies poliploides pueden ser clasificadas en dos tipos según su composición genómica y la forma en que fueron originadas. Las especies autopoliploides se generan por fecundaciones con gametos no reducidos de una misma especie, o por duplicación somática (Stupar, 2007). Por lo tanto los cromosomas de los distintos genomios de una especie autopoliploide presentan homología total, con consecuente herencia polisómica (Osborn et al., 2003). Las especies alopoliploides son poliploides generados por hibridaciones interespecíficas seguidas de duplicaciones cromosómicas, o generados a través de gametos no reducidos de especies diferentes (Stupar, 2007) y combinan dos o mas genomios no homólogos (Osborn et al., 2003). Desde el punto de vista de la herencia muchos alopoliploides se comportan como diploides, con herencia disómica debido a que gracias a la falta de homología entre genomios diferentes no se produce apareamiento entre cromosomas homeólogos, y por lo tanto en la meiosis se generan bivalentes (Levin 2002, Osborn 2003).

Existen diferencias en los efectos de la poliploidía a nivel genotípico según el tipo de poliploide. Para especies autopoliploides los altos niveles de heterocigosis son

debidos a la transferencia de la heterocigosis desde la generación anterior vía gametos no reducidos y a la herencia polisómica, a través de la cual se mantienen mayores niveles de heterocigosis que para la herencia disómica (Moody et al. 1993, Hancock 2004). Por otro lado las especies aloploidoides presentan la ventaja intrínseca de la hibridez permanente a través de la cual se fija la heterocigosis permanentemente (Soltis y Soltis, 2003). Esto se debe a que para un gen determinado la presencia de homeoalelos en genomios homeólogos se mantiene (Levy y Feldman, 2002) ya que la segregación entre estos es independiente. La heterocigosis fijada en especies aloploidoides permite mantener la heterosis (Comai, 2005), e incrementar la flexibilidad bioquímica de los aloploidoides (Levin, 1983). Para genes con efectos aditivos la presencia de nuevas homeologías génicas en un genoma puede crear nuevos fenotipos transgresivos y exitosos (Osborn, 2004).

Muchas veces en complejos apomícticos aloploidoides, donde genotipos asexuales aloploidoides recombinan con especies sexuales (Speranza 2005b, Hörandl 2009) la apomíxis permite la supervivencia y dispersión de genotipos aloploidoides exitosos (Chen et al., 2007). Las poblaciones naturales de especies que forman parte de complejos apomícticos aloploidoides pueden ser multiclonales y presentar citotipos de distintos niveles de ploidía (Speranza 2005a, Hörandl 2009). Para géneros que contienen especies de importancia agronómica existen complejos aloploidoides agámicos (Osborn 2004, Poehlman y Sleper 2005) con gran diversidad genética debido a la participación de citotipos de distintos niveles de ploidía, materiales poliploides parentales, de diferentes orígenes evolutivos los cuales aportan diversidad genómica, e híbridos interespecíficos de altos niveles de heterocigosis debidos a hibridaciones entre dichos materiales poliploides emparentadas. Es de especial interés la caracterización fenotípica de colecciones de dicha especie, con especial énfasis en los dos factores genéticos que hacen a su variabilidad genética: las variaciones en el nivel de ploidía y orígenes genéticos distintos.

2.3 MORFOGÉNESIS

Crecimiento y desarrollo son dos procesos distintos pero íntimamente relacionados en los ciclos de vida de una célula, órgano, planta o cultivo. Dichos procesos se encuentran bajo control genético y son regulados por el ambiente. En condiciones específicas uno puede ocurrir sin el otro, como es en el caso de situaciones de stress ambiental, en las cuales el desarrollo sucede mientras que el crecimiento puede limitarse (Wihelm y McMaster, 1995). El proceso por el cual células, órganos o plantas pasan por estados diferenciados, sucesivos e identificables durante su ciclo de vida se considera como el proceso de desarrollo, mientras que el crecimiento como proceso se define como un incremento en tamaño o masa (Salisbury y Ross, 1991).

Las plantas (desde niveles intraespecíficos hasta ecosistémicos) varían ampliamente en sus tasas de producción de materia seca i.e. tasas de crecimiento. Estas diferencias están relacionadas a las condiciones ambientales donde ocurre el crecimiento, o a diferencias inherentes al vegetal en cuestión (Lambers et al., 1989). Dado que el crecimiento ocurre durante la sucesión de estados de desarrollo en un ciclo vegetal (Pearson y Ison, 1997) las diferencias en el crecimiento vegetal van a estar relacionadas también a diferencias en desarrollo vegetal. Diversos han sido los enfoques para la generación de herramientas que describan de las dinámicas de desarrollo, (Haun 1973, Zadocks 1974, Moore et al. 1991, Counce et al. 2000) y crecimiento vegetal (West et al. 1920, Vernon y Allison 1963). La morfogénesis es un enfoque que contempla la concreción de las etapas de desarrollo vegetal en conjunto con la generación de la forma sobre la cual los vegetales realizan el crecimiento.

2.3.1 Morfogénesis

La forma vegetal se debe concebir como un proceso morfológico, continuo y dinámico, y no como el resultado de un proceso. Dentro de este enfoque ha cobrado importancia la morfogénesis en el sentido que la misma estudia el desarrollo de la forma

de la planta durante su ontogenia (Sattler y Rutishauser, 1997). La morfogénesis vegetal es la dinámica de generación (*génesis*) y expansión de la forma de la planta (*morphe*) en el espacio (Chapman y Lemaire, 1993). Los fenómenos morfogenéticos se caracterizan por ser procesos con actividad repetitiva a distintos niveles, debido a la producción de tres tipos fundamentales de unidades constitutivas. El primer tipo es la célula, la cual por su capacidad de autodividirse genera los meristemas. La función de esta unidad da origen al metámero, el segundo tipo de unidad, el cual en multiplicidad y conjunción, y gracias a la actividad de sus meristemas da origen al módulo, tercer tipo de unidad. Estos en conjunto forman el sistema de vástagos y de raíces (Barlow, citado por Perreta et al., 2005). A nivel macroscópico se considera al metámero como la unidad elemental de construcción de la estructura morfológica de las plantas (White, 1979).

2.3.1.1 Estructura de una planta gramínea

La unidad elemental: el fitómero

El metámero es también llamado fitómero, órgano el cual cumple con el rol de ser la unidad elemental para la construcción de la arquitectura de las plantas. Las plantas construyen su forma a través de la repetida formación, expansión y senescencia de dichas unidades básicas (McMaster, 2005), y todos los órganos de las plantas, incluidas sus estructuras reproductivas, pueden ser desensambladas a fitómeros (Hay y Porter, 2006). Organológicamente el fitómero se compone por una hoja, su vaina y lámina, el nudo de inserción de la hoja con el correspondiente entrenudo y yema axilar, (Evans y Grover, 1940) y raíces adventicias si están presentes. Existen variaciones en cuanto a cual es el entrenudo que compone al fitómero, si el ínfero o súpero a la hoja; pero además existe discordancia en cuanto a la posición de la yema axilar y de la hoja en este (Clark y Fisher, 1987). De cualquier manera, independientemente si el enfoque usado en la definición de la organología del fitómero es anatómico o fisiológico, la importancia de este reviste en que su identidad refiere a un evento de desarrollo repetible demográficamente (White, 1979), e individualizable a el proceso de desarrollo foliar de

una planta gramínea (McMaster, 2005). De esta manera el crecimiento por unidad de área y el efecto del ambiente sobre este se puede estudiar en términos de crecimiento y desarrollo foliar i.e. en términos del fitómero (Bazzaz y Harper, 1977).

La unidad modular: el macollo

La unidad modular, vástago, o en gramíneas el macollo, se construye a través del desarrollo de los sucesivos fitómeros a partir de un meristemo apical (McMaster, 2005). El proceso de ramificación o macollaje ocurre a través de la formación, crecimiento y desarrollo de fitómeros en los meristemas axilares de las hojas, lo cual va a generar macollos o vástagos laterales en ordenes jerárquicos inferiores, en función de la edad de estos respecto del macollo o eje principal de la planta (Nelson 2000, Barlow, citado por Perreta et al. 2005, McMaster 2005). Por lo tanto una planta gramínea está compuesta por diferentes macollos, ontogenéticamente de distintas generaciones, generados por la diferenciación, desarrollo y crecimiento de los sucesivos fitómeros en los meristemas axilares de las hojas de macollos más viejos. La tasa de macollaje, su variación estacional, y la longevidad de los macollos determinan la densidad de macollos por unidad de área en un momento dado, en una pastura de especies gramíneas (Briske, 1991). Dicha demografía clonal de los macollos permite modelar los procesos de desarrollo y crecimiento por unidad de área a los sucesos que ocurran en un macollo, (Briske y Derner, 1998) hecho el cual se simplifica al suceso de crecimiento y desarrollo de fitómeros en un macollo.

Crecimiento de una pastura

En un ecosistema de pastizales la producción vegetal es el resultado de dos procesos simultáneos: el crecimiento o acumulación de tejidos nuevos en las plantas y los procesos de senescencia, los cuales suceden juntos (Hodgson et al., 1981, 1990). Este equilibrio opera a nivel de macollos individuales y es evidencia de la continua sustitución de fitómeros en los mismos. La cantidad de macollos por unidad de área junto con los patrones de macollaje, (aparición, mortalidad y senescencia) en relación a la producción neta de tejidos por macollo determina la producción de la comunidad vegetal (Da Silva y Pedreira, 1997). La producción bruta de forraje (crecimiento) puede ser estimada a partir del balance de carbono fijado por fotosíntesis y el utilizado en la respiración, o a partir de mediciones de tasas de formación de tejidos por unidad de población, combinadas con estimaciones de los cambios en la densidad de macollos. En una situación ideal ambas aproximaciones deberían usarse concurrentemente, sin embargo esto no siempre es posible y generalmente los estudios de flujo de tejidos son la única opción (Davies, 1993).

La morfogénesis aérea determina la evolución del IAF de la pastura lo cual es uno de los factores que, junto con propiedades arquitecturales y ópticas del IAF y la radiación incidente, definen la cantidad de radiación interceptada (Varlet-Grancher y Bonhomme, 1979). La cantidad de radiación interceptada es el factor de mayor importancia en la determinación del rendimiento de un cultivo (Cooper, 1970). Esta y los patrones de captación, uso y pérdida de carbono por las plantas determinan la acumulación neta de materia seca. A través de los procesos de aparición de nuevos órganos, expansión y senescencia de los mismos, la morfogénesis determina el flujo de carbono y por tanto la distribución de la materia seca generada en la forma de la planta y de la pastura (Lemaire y Chapman, 1996).

2.3.1.2 Morfogénesis aérea de plantas individuales

Variables morfogenéticas

Para gramíneas en estado vegetativo donde solamente se producen hojas y macollos, la morfogénesis es función de tres características morfogenéticas vegetales principales: Tasa de aparición de hojas, tasa de elongación foliar y tasa de senescencia foliar. Estas características están genéticamente determinadas y son modificadas por variables ambientales como temperatura, nutrición nitrogenada, status hídrico y demás factores (Chapman y Lemaire 1993, Lemaire y Chapman 1996). Dichas variables morfogenéticas interrelacionadas determinan las tres principales características estructurales de las pasturas: Tamaño foliar, densidad de macollos y número de hojas vivas por macollo. La combinación de estas tres características determina el índice de área foliar de la pastura (Chapman y Lemaire, 1993).

Filocrón

En el meristemo apical del macollo de una gramínea durante su desarrollo vegetativo, inmediatamente por debajo del domo apical, en las capas “túnica” laterales (Nelson, 2000) se diferencian protuberancias de células en una sucesión acrópeta y en posiciones opuestas y alternadas a cada lado del meristemo. Estas dan inicio a los primordios foliares (Pinto, 1994). Generalmente la iniciación foliar nunca deja de ocurrir durante el desarrollo vegetativo (Evans y Barton, 1997). El intervalo entre la aparición de un primordio foliar y el siguiente en el meristemo apical se representa con el nombre de plastocrón (Wilhelm y McMaster, 1995). El tiempo insumido en la formación y desarrollo de cada primordio de hoja en el ápice y la velocidad de elongación de estos a través del pseudotallo, junto con el largo del mismo, definen el momento de aparición de las láminas de las hojas por sobre la lígula de la hoja anterior, y por tanto la tasa de aparición de las hojas (Skinner y Nelson 1994c, Skinner y Nelson 1995). Como el plastocrón no puede ser monitoreado fácilmente sin destruir la muestra, es de uso más general la cuantificación del tiempo entre la aparición de dos hojas sucesivas por sobre

el pseudotallo, o entre dos idénticos estados de desarrollo de hojas sucesivas (Nelson, 2000). El filocrón es el intervalo de tiempo transcurrido entre dos estados de desarrollo idénticos de dos hojas sucesivas de un macollo (Wilhelm y McMaster, 1995), y se corresponde a la inversa de la tasa de aparición de las mismas (Klepper et al., 1982).

La tasa de aparición foliar juega un rol central en la morfogénesis aérea ya que esta tiene influencia directa con las tres características estructurales que definen el Índice de área Foliar de la pastura (Fig. 2). En combinación con la tasa de elongación foliar, TAF define el largo foliar final (Chapman y Lemaire, 1993). También TAF tiene relación directa con la densidad de macollos, dado que para cada hoja en formación o formada hay una yema en su axila con potencial de formación de un macollo. Por lo tanto la densidad de macollos, debida a la tasa macollaje, va a depender de la tasa de aparición de hojas (Davies 1974, Skinner y Nelson 1992, 1994a) y de el “site filling” (Neuteboom y Latinga 1989, Van Loo 1992) o “site usage” de las yemas axilares formadas (Nelson 2000, Mathew y Assuero 2000) i.e. tasa de concreción de las mismas en macollos. Por último, TAF en conjunto con la vida media foliar definen el No hojas vivas por macollo (Chapman y Lemaire, 1993).

Para una especie cualquiera sea, el filocrón es un parámetro constante cuando es expresado en tiempo térmico i.e. grados día (de aquí en adelante GD). Esto provee una escala universal para el estudio de la morfogénesis (Anslow 1966, Lemaire y Agnusdei 2000). El mismo puede ser determinado de diversas maneras, por ejemplo: el tiempo térmico transcurrido entre la aparición por sobre el pseudotallo de 2 hojas sucesivas, o el tiempo térmico transcurrido entre dos estados de desarrollo iguales para dos hojas sucesivas. En general la manera más práctica de determinarlo es a través de la regresión entre sucesivos estados de desarrollo caracterizados por medio de la escala Haun (Haun, 1973) y una escala de tiempo térmico. Así, la pendiente de la recta de regresión arroja la TAF, y su inversa es el filocrón, calculado en GD (Wilhelm y McMaster, 1995). De cualquier manera la universalidad de los valores de filocrón para

una misma especie, o para comparaciones entre especies, requiere de la determinación de la temperatura base necesaria para el cálculo de los GD acumulados, así como de la respuesta del filocrón a variaciones en temperatura (Lemaire y Agnusdei, 2000).

Factores ambientales que afectan el filocrón

Distintos factores ambientales pueden afectar en mayor o menor medida al filocrón. La variación de la disponibilidad de los nutrientes esenciales (nitrógeno y fósforo) a niveles no extremos genera variaciones en el filocrón (Longnecker y Robson 1994, Wilhelm y McMaster 1995, Prystupa et al. 2003, Lavres Jr. 2004, Bartholomew y Williams 2006). También déficits hídricos generan aumentos del filocrón (Craufurd et al. 1993, Bartholomew y Williams 2006).

Variaciones en la altura del pseudotallo de las gramíneas, en tapices vegetales utilizados para producción vegetal genera variaciones del filocrón (de Moura Pinto 2001, Nogueira Martins 2005, da Silva Pena 2009) debido al efecto que el largo del pseudotallo tiene sobre este (Miglietta 1991, Skinner y Nelson 1995, Duru y Ducrocq 2000a, 2000b). La transición del ápice vegetativo a reproductivo es un fenómeno que genera disminuciones en el filocrón, relacionado a la elongación de entrenudos (Gonzalez y Xavier 2000, de Moura Pinto 2001). La estructura del tapiz, afectada por factores antropogénicos o por efectos de la misma ontogenia vegetal, genera variaciones en el filocrón debido a efectos de dicha estructura sobre la calidad de luz (cambios en la relación Rojo/Rojo Lejano (R/FR) (Casal et al. 1985, Casal et al. 1987, Gautier et al. 1999), y en la cantidad de radiación fotosintéticamente activa (PAR) interceptada (radiación comprendida entre 400 y 500 nm) (Barnes y Bugbee 1992, Gautier y Varlet Grancher 1996). Mas estas variaciones no son coincidentes entre los distintos trabajos revisados. Las variaciones en el largo del fotoperíodo y la temperatura son factores que también afectan al filocrón (Masle 1989, Cao y Moss 1989a, 1989b, Van Esbroeck et al. 2003, Itoh y Sano 2006), a lo largo del ciclo de crecimiento vegetal.

La temperatura es el principal factor ambiental que gobierna la tasa de flujo de tejido vegetal y por lo tanto a la tasa de aparición de hojas (Gastal et al. 1992, Skinner y Nelson 1995). El modelo de estudio de la misma a través del filocrón, cuantificado en escala de tiempo térmico, le brinda universalidad a la modelación del proceso, (Anslow 1966, Lemaire y Agnusdei 2000) bajo el supuesto de que la relación entre la tasa de aparición de hojas y la temperatura es lineal (Baker et al. 1980, Cao y Moss 1989b, McMaster et al. 1992, Ellis et al. 1993). Pero varios trabajos describen lo contrario (Slafer y Rawson, 1995) y se han propuesto modelos de simulación no lineales, e integrando al fotoperíodo o distintos tipos de cuantificaciones térmicas (McMaster y Wilhelm 1995, Xue et al. 2004) en dichas funciones de predicción. Sin embargo la respuesta lineal ocurre en el rango comprendido entre la temperatura base y la óptima (Bonhomme 2000, McMaster 2005) y ajustes por variación de varios factores ambientales logran explicar la linealidad de la respuesta entre TAF y la temperatura (Jamieson, 2008). Dado que la morfogénesis es un proceso que está genéticamente establecido (Gillet et al., 1984), dicha respuesta, evidenciada por el efecto de la temperatura sobre el filocrón, es determinada genéticamente (Wilhelm y McMaster, 1995).

Factores genéticos que afectan el filocrón y su variabilidad

El efecto de variaciones genéticas sobre el filocrón en organismos vegetales depende del tipo de variación genética a la que nos refiramos. Las variaciones en el nivel de ploidía generan variabilidad en el filocrón. El ciclo celular programado, delimitado por el proceso de división celular, juega un papel fundamental en los procesos de morfogénesis y desarrollo vegetal (Meijer y Murray, 2001). El incremento en el contenido de ADN en el núcleo de células vegetales, a través del incremento de la ploidía, enlentece los ciclos celulares debido a que el tiempo necesario para la mitosis y la meiosis es mayor a mayor contenido de ADN a nivel nuclear. De esta manera el tiempo mínimo de generación aumenta, y por lo tanto la duración de los procesos de

desarrollo. Es así que la variación del ciclo celular está estrechamente relacionada a las tasas de desarrollo vegetal (Bennett 1972, Inzé y De Veylder 2006). El hecho de que materiales de mayor nivel de ploidía tengan filocrones más largos (Brettagnolle y Thompson 1996, Bultynck et al. 2004) es fruto del efecto del incremento del nivel de ploidía sobre el incremento en la duración de ciclos celulares, y su relación con el enlentecimiento del desarrollo vegetal. Dicho enlentecimiento, explicitado en el alargamiento del filocrón, se expresa en un retardo de la fenología y fechas de floración más tardías para materiales de mayor nivel de ploidía (Levin 1983, Brettagnolle y Thompson 1996, Petit et al. 1997). Las consecuencias se expresan a nivel de alargamiento del ciclo vegetativo, con consecuencias también en características del crecimiento vegetal, como ser: producción de menos hojas y macollos, enlentecimiento del crecimiento y por tanto menores tasas de crecimiento relativas pero no absolutas (Levin 1983, Brettagnolle y Thompson 1996, Van Esbroeck et al. 1997, Bultynck et al. 2004). Sin embargo este patrón de variación del filocrón en relación a la variación en el nivel de ploidía se puede ver afectado. Situaciones de competencia entre genotipos de distinto nivel de ploidía pueden generar que los materiales de menor nivel de ploidía alarguen su filocrón. Estos cambios en el filocrón van a tener como resultado variaciones en la fenología y en características de crecimiento vegetal para los materiales afectados por las situaciones de competencia (Maceira et al., 1993). Por otro lado muchas veces materiales genéticos aloploidoides, generados por hibridaciones artificiales entre genotipos de diversos niveles de ploidía, se diferencian en sus valores de filocrón respecto al patrón de respuesta del filocrón frente a variaciones en el nivel de ploidía (Couso et al., 2010)

Existen claras diferencias genéticas en tasas de desarrollo a nivel interespecífico, tanto en gramíneas forrajeras como cereales, en estado vegetativo (Frank y Hofmann 1989, Cao y Moss 1989b, Frank y Ries 1990, Frank y Bauer 1995), pero también aun a nivel intraespecífico (Frank y Hofman 1989, Cao y Moss 1989b, Frank y Bauer 1995). Estas diferencias son debidas a diferencias en parámetros morfogenéticos

(Van Esbroeck et al. 1997, 1998, Madakadze et al. 1998, Miranda Gomide y Gomide 2000). Para varias especies gramíneas se han definido valores de filocrón (Lemaire y Agnusdei 2000, Eggers et al. 2004, Gramig y Stoltenberg 2007), y también se ha explorado la variación del mismo a nivel intraespecífico (Ghesquière et al. 1994, Frank y Bauer 1995, Van Esbroeck et al. 1997, Miranda Gomide y Gomide 2000, Clerget et al. 2008, Van Esbroeck et al. 2008).

Las diferencias en origen genético entre distintos materiales tanto a nivel interespecífico como intraespecífico son fuente de generación de variabilidad para el filocrón. Diferentes orígenes genéticos entre distintos materiales son debidos a distintas situaciones ecogeográficas de evolución, con consecuencias expresadas en diferencias genéticas (Van Esbroeck et al. 1997, Padilla y Otegui 2005). Dichas variaciones refieren muchas veces a diversidad génica y variaciones en los mecanismos de expresión de los alelos que codifican para características morfogenéticas (Rebetzke y Richards 1999, Morita et al. 2005, Van Esbroeck et al. 2008). Se han realizado caracterizaciones fenotípicas que cuantifican filocrón de manera directa o indirecta, en germoplasma de diversas gramíneas cereales con ejemplos en el género *Zea* (Tollenaar et al. 1979, Warrington y Kanemasu 1983, Tollenaar et al. 1984, Birch et al. 1998, Padilla y Otegui 2005, Van Esbroeck et al. 2008), *Sorghum* (Craufurd et al. 1998, Clerget et al. 2008) *Triticum* (Frank y Bauer 1995, Rebetzke y Richards 1999) *Hordeum* (Dofing 1999, Borràs-Gelonch et al. 2009, 2010), *Oryza* (Morita et al., 2005) entre otras. También se han realizado caracterizaciones en gramíneas forrajeras estivales de los géneros *Brachiaria* y *Panicum* (Van Esbroeck et al. 1997, Teixeira da Silveira et al. 2010) e invernales como *Lolium*, *Festuca* y *Dactylis* (Kölliker et al., 1999).

Usos del filocrón

La importancia práctica del conocimiento del filocrón de especies vegetales se basa en la caracterización de la relación entre la temperatura y el desarrollo vegetal, y en

la validez de su utilización en modelos de predicción del crecimiento y desarrollo de pasturas, cultivos o malezas (fenología, evolución del área foliar, etc.). De esta manera modelos de simulación provenientes de dicha información sirven de herramienta para definir distintas prácticas de manejo en función del objeto de uso del vegetal en cuestión (Frank y Bauer 1995, Eggers et al. 2004, McMaster 2005, Gramig y Stoltenberg 2007). El hecho de conocer los efectos genéticos sobre el filocrón, muchas veces permite la obtención de modelos más precisos (Juskiw et al., 2001). Además el filocrón es una herramienta para visualizar adaptabilidad de determinadas especies o distintos genotipos a ambientes específicos (Schirmer de Mattos et al., 2005) así como para describir la respuesta del flujo de tejidos y la plasticidad fenotípica a distintas practicas de manejo (Bandinelli et al. 2003, Martins et al. 2005).

El filocrón, junto con las demás características morfogenéticas, permite describir procesos sucesionales en los pastizales, en función de distintos factores de disturbio del equilibrio ecológico (Bretagnolle y Thompson 1996, Eggers et al. 2004). La caracterización primaria de materiales genéticos a través del filocrón y demás características morfogenéticas permite una aproximación temprana a la identificación de características de valor productivo en programas de mejoramiento de especies forrajeras (Ghesquière et al. 1994, Hazard y Ghesquière 1997, Bahmani et al. 2000).

Tasa de elongación foliar

La segunda característica morfogenética que participa en la definición de las características estructurales de las plantas gramíneas y por lo tanto del flujo de tejido vegetal en el espacio es la tasa de elongación foliar (a partir de ahora TEF) (Chapman y Lemaire, 1993). La TAF en conjunto con la TEF definen el largo foliar final ya que este es definido por la duración de la elongación foliar (DEF) y la TEF (Lemaire y Agnusdei 2000, Agnusdei y Assuero 2004) y la DEF es una fracción constante del filocrón (Robson 1967, Skinner y Nelson 1994c). Los estudios en el área de la expansión foliar

en gramíneas generalmente se enfocan en el componente axial de la misma, la TEF ($\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$), i.e. la tasa de incremento en largo foliar (Begg y Wright 1962, Robson 1973, Schnyder 1987, Fiorani 2000). Esto es debido a que la TEF es la variable más relevante de la expansión del área foliar ya que el crecimiento foliar en gramíneas es principalmente unidireccional y paralelo al eje longitudinal de la hoja (Mac Adam et al., 1989), y además a que TEF puede ser medida fácilmente (Arredondo y Schnyder, 2003).

La elongación foliar ocurre debido a la actividad meristemática de la hojas en desarrollo, más precisamente a la actividad del meristemo intercalar de las mismas. Este meristemo está cubierto por el pseudotallo de las hojas anteriormente desarrolladas (Davidson y Milthorpe 1966, Kemp et al. 1980). Una vez que un primordio foliar se diferencia en el meristemo apical, ocurre una primer etapa de crecimiento-elongación del mismo debida a una serie de divisiones celulares, hasta que este alcanza 2-3 mm de largo y las células logran un largo de 20nm. (Skinner y Nelson, 1994b). En esta etapa queda definida la zona de división celular del meristemo intercalar. Es una etapa caracterizada por baja TEF y baja tasa de elongación foliar relativa (TEFR) ($\text{mm} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$). Al continuar la elongación del primordio foliar la actividad meristemática se extiende a la parte más distal del meristemo, donde comienza la etapa de elongación de las células producidas en la zona de división celular y se define la zona de elongación celular (Skinner y Nelson, 1995). Esta zona va a incrementar su largo hasta lograr su largo máximo, momento que coincide con el momento en que la punta de la hoja aparece sobre la vaina de la hoja anterior (Skinner y Nelson, 1994b). Esta etapa está caracterizada por un incremento de la TEF y por tener las máximas TEFR. Posteriormente la hoja comienza una etapa de crecimiento lineal, TEF máxima y disminución de TEFR. En la última etapa la hoja comienza a finalizar su crecimiento, en sincronía con la finalización de la división celular en su base, y la elongación de las últimas células producidas en el meristemo (Skinner y Nelson, 1995).

Si bien la elongación foliar se puede simplificar a un único proceso de elongación (Kemp et al. 1980, Schnyder et al. 1990), una vez que la lígula se diferencia en el meristemo intercalar, la elongación se puede describir como dos procesos que ocurren separadamente en la lámina y en la vaina. El límite entre la lámina y vaina foliar se define cuando el primordio foliar tiene menos de 1 mm (Sylvester et al. 1990, Skinner y Nelson 1994b). La lígula se diferencia en la zona de división celular, en el meristemo intercalar, cuando la lámina foliar tiene alrededor de un 20% de su largo final, fenómeno que sucede en coordinación con la aparición de la punta la lámina por sobre el pseudotallo (Skinner y Nelson, 1994b). A partir de ese momento comienza la etapa de rápida TEF la cual corresponde exclusivamente a la elongación de la lámina. Una vez que la lámina logra alrededor del 75% de su largo final, la lígula recorrió toda la zona de división celular del meristemo y por lo tanto la zona de elongación de la lámina comienza a decrecer y también su tasa de elongación. A partir de entonces la zona de elongación se posiciona en la vaina y la elongación ocurre mayormente en la misma. La tasa de elongación foliar comienza a decrecer en la etapa de elongación de la vaina (Schnyder et al., 1990). Una vez que la lámina cesó su elongación y la lígula apareció por sobre la lígula de la hoja anterior, finaliza la producción celular en la zona de división celular del meristemo y la elongación que resta por cumplir la vaina es debida a la finalización de la elongación de las restantes células en la zona de elongación del meristemo (Skinner y Nelson, 1994b).

La TEF es el producto de dos propiedades de la zona de crecimiento: largo de la zona de crecimiento (mm) y TEFR promedio del tejido de la zona de crecimiento ($\text{mm} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (Arredondo y Schnyder, 2003), esta última también llamada tasa de crecimiento relativa elemental (TCRE) (Ericsson, 1976) o tasa de elongación segmental (Skinner y Nelson, 1995). Ambos parámetros dependen de la tasa de producción de células epidérmicas, tasa de elongación de las células y duración de la elongación de las mismas, (MacAdam et al. 1989, Gastal y Nelson 1994). Por lo tanto la elongación foliar es un proceso derivado del efecto acumulado de la elongación celular (Durand, 1999).

Incrementos en la TEF pueden ser explicadas por incrementos en el largo de la zona de elongación celular y en la TEF_R (Volenc y Nelson, 1983), incrementos en el largo de la zona de elongación pero sin cambios en la TEF_R (Paolillo y Sorrells 1992, Gastal y Nelson 1994), incrementos en la TEF_R sin cambios en el largo de la zona de elongación (Schnyder y Nelson 1988, Arkebauer y Norman 1989) y finalmente debidos a incrementos en el largo pero decreciendo la TEF_R (Volenc y Nelson 1981, Skinner y Simmons 1993). A nivel celular incrementos en la TEF concuerdan con aumentos en la producción celular que derivan en aumentos en la cantidad de células elongando. La TEF_R varía con variaciones en la tasa de elongación de las células de manera contradictoria, por lo tanto la elongación celular no esta directamente relacionada con la tasa de elongación de la hoja. La TEF y las variaciones en los parámetros que la explican, largo de zona de elongación y TEF_R, varían en respuesta a variaciones ambientales y genéticas (Skinner y Nelson, 1995).

A nivel experimental la cuantificación de la TEF se utiliza para explicar y entender los efectos de diversos factores ambientales sobre el crecimiento vegetal en especies gramíneas (Gastal 1992, Frensch 1997, Berone et al. 2007) y así poder manipularlos por el hombre. En la manipulación de estos procesos vegetales por parte del hombre, la predicción a través de modelos de simulación de la respuesta en crecimiento vegetal frente a la variación de los factores, siempre es de interés y por lo tanto la cuantificación de la TEF se utiliza en trabajos de modelación del crecimiento vegetal (Durand et al. 1999, Lemaire y Agnusdei 2000, Fournier et al. 2004). En la búsqueda de mejorar la dinámica de crecimiento o determinadas características productivas de especies gramíneas de uso agronómico, la TEF se incluye en la caracterización de materiales en programas de mejoramiento genético (Ghesquière et al. 1994, Hazard et al. 1994, Reymond et al. 2003, Bultnyck et al. 2004) ya que entre otras cosas este se correlaciona con la producción de biomasa (Horst, 1978).

Factores ambientales que afectan la TEF

La disponibilidad de Nitrógeno afecta la TEF (Gastal et al. 1992, Gastal y Nelson 1994) en mayor medida que las variaciones en la disponibilidad de fósforo (Coloma et al. 2000, Plénet et al. 2000). Las variaciones de disponibilidad hídrica afectan la TEF de la misma manera que los nutrientes (Acevedo et al. 1971, Saab y Sharp 1989, Durand et al. 1995). Condiciones de salinidad, que generan un stress a las plantas a nivel de su crecimiento, inducen disminuciones en la TEF de gramíneas (Hu y Schmidhalter, 2008). Todos estos factores afectan la TEF a través de los efectos de estos sobre la dinámica celular en el meristemo intercalar de las hojas (MacAdam 1989, Durand et al. 1995, Jovanovic et al. 2004, Kavanová et al. 2006, Hu y Schmidhalter 2008).

Intensidades de pastoreo muy severas pueden afectar a la TEF (Donaghy y Fulkerson 1998, Berone et al. 2008) y también existen variaciones de TEF en relación a la ontogenia de los macollos (Schnyder y Nelson 1989, Duru y Ducrocq 2000, Bos et al. 2000, Arredondo y Schnyder 2003). Características de la luz incidente sobre los tapices gramíneos tienen sus efectos sobre la TEF. Variaciones en la intensidad lumínica generan variaciones en la TEF (Schnyder y Nelson 1989, Bos y Neuteboom 1998, Bos et al. 2000). Respecto a la calidad de luz incidente, variaciones en la relación de determinadas longitudes de onda del espectro lumínico (relación R/RL) pueden generar variaciones en la TEF (Skinner y Simmonds, 1993), así como también la cantidad de luz azul (Gautier y Varlet Grancher, 1996) y las variaciones en el largo del fotoperíodo (Hay et al., 1990).

Entre los factores ambientales que modulan la tasa de elongación foliar, cuando agua y nutrientes no son limitantes, la temperatura es el de mayor importancia (Peacock 1975a, Gallagher y Biscoe 1979), y frente a variaciones en esta a nivel de los meristemos, la TEF responde de manera inmediata (Peacock 1975b, Stoddart et al.

1986). Por otro lado frente a variaciones diarias o estacionales en la temperatura la TEF puede responder de manera diferencial ya sea por factores ontogénicos de los macollos (Peacock, 1976) o porque para determinado genotipo la TEF responde de manera exponencial a variaciones en temperatura (en el rango de temperaturas medias diarias de 5-17°C para especies invernales y de 12-20°C para especies estivales (Duru y Ducrocq 2000, Lemaire y Agnusdei 2000). En contradicción a esto varios trabajos muestran respuestas lineales a la temperatura tanto para especies estivales (Ben Haj-Salah y Tardieu 1995, Lafarge et al. 1998) como invernales (Peacock 1976, Keatinge et al. 1980).

Factores genéticos que afectan la TEF y su variabilidad

La TEF se ve afectada por variaciones genéticas de índole genómico. Las variaciones en el nivel de ploidía entre distintos materiales afectan la TEF. Al igual que para el filocrón, el aumento del ADN genómico a nivel del núcleo afecta la dinámica celular a nivel meristemático a través de la variación de diversos mecanismos de generación de la cantidad y el tamaño celular. Dicha variación en la dinámica se debe a un incremento del tamaño celular epidérmico final a través de una mayor tasa de elongación celular así como también a través de un mayor volumen celular (Byrne et al., 1981), pero no a través de la variación en la duración del período de elongación (Sugiyama, 2005). Los efectos de la variación en el nivel de ploidía sobre TEF pueden ser debidos también a variaciones en la tasa de producción celular a nivel meristemático a través del incremento en el número de células en división y o en la tasa de división celular (Fiorani et al., 2000), pero siempre generando un incremento del tamaño de la zona de crecimiento, i.e. meristemo intercalar, lo cual está altamente correlacionado con TEF (Arredondo y Schnyder, 2003). Por lo tanto a mayores niveles de ploidía los valores de TEF van a ser mayores (Fiorani et al. 2000, Bultynck et al. 2004, Sugiyama et al. 2005). Los aumentos en TEF a través del aumento en el nivel de ploidía, generan variaciones en la evolución del área foliar, en tasas de flujo de tejidos, tasas de

asimilaciones netas, tasas de crecimiento relativas y por ende aumentos en los tamaños foliares finales y en la producción de biomasa (Fiorani et al. 2000, Khramtsova et al. 2003, Bultynck et al. 2004, Sugiyama 2005). Sin embargo algunas veces incrementos en los niveles de ploidía no tienen por consecuencia aumentos en la TEF. Esta se ve afectada por situaciones de competencia al punto que las diferencias en TEF entre materiales de distintos niveles de ploidía en situaciones de competencia se pueden ver invertidas, pasando a tener los materiales de menor nivel de ploidía mayores TEF que los de mayores niveles de ploidía (Maceira et al., 1993). Hay situaciones en las que la regla de comportamiento de TEF frente a variaciones en el nivel de ploidía se ve afectada por la constitución genética de los materiales evaluados. Cuando se hibridan materiales con valores de TEF distantes entre sí, muchas veces el genotipo resultante puede disminuir su TEF respecto de la de los padres y por lo tanto tener valores mayores a los de materiales de mayor nivel de ploidía (Couso et al., 2010).

De la misma manera que para filocrón, materiales genéticos de un mismo nivel de ploidía pero de distintos orígenes ecogeográficos, y distintas líneas evolutivas por adaptación ambiental, van a presentar diferencias en su constitución genética y por lo tanto diferencias en TEF entre ellos. Los niveles de variabilidad intraespecífica para TEF se van a ver afectados por las magnitudes de la variabilidad genética intraespecífica. Materiales de arroz y de *Festuca arundinacea* de distintos orígenes, a nivel intraespecífico, presentaron distintos valores de TEF (Robson 1967, Parent et al. 2010). Mas aún, variaciones intraespecíficas para TEF y su relación con variaciones en características morfológicas- fisiológicas y de índole agronómico han sido documentadas en trabajos que estudiaron ecotipos de *Festuca* (Robson 1967, Volenec y Nelson 1984), ecotipos, y “familias de medios hermanos” de *Lolium perenne* (Ghesquière et al. 1994, Bahmani et al. 2000) y cultivares de *Panicum maximum* (Gomide y Gomide, 2000) entre otros. Para algunas especies se ha identificado el efecto de distintos materiales genéticos sobre la TEF (Ghesquière et al. 1994, Bahmani et al. 2000) y la fuente génica de variaciones fenotípicas en la misma (Keyes et al. 1989,

Reymond et al. 2003, 2004). Para TEF recurrentemente se realizan estudios de generación y exploración de variabilidad intraespecífica así como de caracterización de distribución de la misma (Teixeira et al., 2010) en respuesta a situaciones de stress tanto salino (Munns y James, 2003) como hídrico (Piano et al. 2004, Welcker et al. 2007) dada la importancia que tiene la misma para el mejoramiento genético.

Tipos morfogenéticos

Dentro de las plantas gramíneas existen distintos tipos morfogenéticos en función de la combinación de sus atributos morfogenéticos y estructurales. Esto define la forma de la planta y la estructura de un tapiz, y además define medidas de manejo para la utilización eficiente de la biomasa en función del flujo de esta. Suelen existir materiales genéticos que se caracterizan por tener individuos con pocos macollos, de gran tamaño y hojas largas, y materiales genéticos con muchos macollos pequeños y hojas cortas (Bahmani et al. 2000, Lemaire et al. 2009, Teixeira et al. 2010). La principal característica morfogenética que determina que las características estructurales se definan de esta manera es la TAF, por lo tanto el Filocrón (Lemaire y Chapman 1996, Colabelli et al. 1998). En general los materiales genéticos que tienen valores de filocrón elevados consecuentemente tienen tasas de elongación foliar altas y hojas largas, y viceversa (Ghesquière et al. 1994, Colabelli et al. 1998). Además variaciones en el largo foliar son debidas y están correlacionadas a variaciones en la tasa de elongación foliar (Fiorani et al. 2000, Arredondo y Schnyder 2003), así materiales con hojas largas y macollos grandes tienen TEF mayores respecto de materiales de hojas cortas y macollos pequeños (Bahmani et al., 2000). A esto se asocia, en la definición de las características estructurales, la vida media foliar como tercer característica morfogenética (Lemaire et al., 2009).

Por otra parte, el filocrón también define la Tasa de Aparición de macollos (TAM) y por lo tanto la forma del macollo y la estructura de la pastura. Así materiales

con alto filocrón van a tener además de hojas mas largas, menos TAM, y por lo tanto menos No de macollos/ unidad de área, pero macollos mas grandes, y viceversa cuando el filocrón es bajo (Lemaire y Chapman 1996, Colabelli et al. 1998).

2.4 EL MODELO DE ESTUDIO

El bioma pampas es considerado centro de origen de gramíneas forrajeras (Hartley, 1956) y particularmente para el caso de Uruguay existe una muy alta diversidad genética en gramíneas forrajeras (Del Puerto, 1969), principalmente en especies estivales, debido a las condiciones ambientales favorables para su desarrollo (Millot et al., 1987). Dentro de esta diversidad existen géneros como *Axonopus* y *Paspalum* entre otros, con especies de reconocido valor agronómico (Rosengurtt 1943, Bennett y Bashaw 1966), las cuales han sido domesticadas y se cultivan en otras partes del mundo (Millot 1969, Pizarro 2002). El género *Paspalum* contiene varias especies de potencial agronómico (Skerman y Riveros 1992, Pizarro 2002) y es considerado el género más representativo de las comunidades de campo natural de esta región (Millot et al., 1987). Dentro del género, el grupo Dilatata congrega varias especies y biotipos de amplia distribución mundial y valor forrajero reconocido (Miz y de Souza-Chiez 2006, Speranza 2009). El miembro mas representativo, y que más reconocimiento de sus aptitudes forrajeras ha tenido dentro del grupo Dilatata es el biotipo *P. dilatatum* ssp. *dilatatum* “común” (Pizarro 2002, Miz y de Souza-Chiez 2006). Esta gramínea es de ciclo de vida perenne y ciclo de crecimiento primavera-estivo-otoñal (Rosengurtt, 1979), presenta el síndrome fotosintético C4, es de tipo reproductivo apomíctico y naturaleza citogenética alopentaploide (Bashaw y Forbes 1958a, Bashaw y Holt 1958b). El grupo Dilatata también incluye biotipos sexuales alotetraploides y hexaploides apomícticos (Miz y de Souza-Chiez 2006, Speranza 2009)

Las aptitudes forrajeras de *P. dilatatum* Poir. Poir son bien reconocidas desde hace mucho tiempo (Rosengurtt 1943, Pizarro 2002) y son varios los motivos por los

cuales se considera favorable su inclusión en las mezclas forrajeras de pasturas sembradas. La complementariedad ecológica de los ciclos de crecimiento estival e invernal en este tipo de regiones agroecológicas permite la inclusión de un componente estival en las pasturas sembradas el cual juega un rol primordial en la estabilidad del agroecosistema (Johnston 1996, Campbell et al. 1999). Este hecho es apoyado por la gran participación de las gramíneas estivales en las pasturas naturales (Millot et al., 1987) entre ellas las especies del género *Paspalum* (Rosengurtt, 1943), y por el papel que juega la maleza gramínea estival *Cynodon dactylon* (L.) Pers. en las pasturas sembradas (Ríos y Jiménez, 1991). Por otra parte *P. dilatatum* Poir presenta la característica de ser una gramínea C4 con la capacidad de tolerar stress térmico por bajas temperaturas (Campbell et al., 1999), con lo cual se adapta a las condiciones agroecológicas de la región, a las cuales no se adaptan los materiales C4 de uso corriente. Por último, uno de los principales motivos de la corta duración de la fase de pastura en las rotaciones frecuentes en nuestro país, y de la pobre producción estivo otoñal de las pasturas sembradas, es la presencia de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Cultivares de una gramínea perenne estival podrían ser una herramienta para combatir dicha maleza (Santiñaque 1979, García 1995). La aptitud productiva y las ventajas de la inclusión de la especie en mezclas forrajeras han sido puestas de manifiesto en diversos trabajos experimentales tanto en la región (Symonds y Salaberry 1978, Santiñaque 1979, Carámbula 2002), como en otras partes del mundo (Burson et al. 1991, Venuto et al. 2003). Una última puesta a punto general acerca de sus ventajas productivas se llevó a cabo en la actividad Taller “El Pasto Miel: Una alternativa para las pasturas de la región pampeana” (2003), realizada en el 25° Congreso Argentino de Producción Animal.

Si bien *P. dilatatum* Poir. es la primer gramínea de ciclo estival que se ha utilizado como forrajera (Skerman y Riveros, 1992) y presenta aptitudes agronómicas claras que validan su utilización, la generación de cultivares por los programas de mejoramiento en distintas partes del mundo ha sido discontinua y ha resultado en poca adopción a nivel comercial. Dentro de las principales limitantes agronómicas de la especie, que han

condicionado su utilización, resaltan la ineficiente producción de semilla por sus bajos volúmenes de producción por unidad de área, y su baja calidad debido a la susceptibilidad al hongo *Claviceps paspali* Stevens & Hall., lo cual condiciona aun mas la producción de semilla. También el difícil y lento establecimiento de *Paspalum* en la implantación de la pastura es otra de las limitantes (Asociación Argentina de Producción Animal, 2003).

En Uruguay los esfuerzos sistemáticos de prospección, caracterización y generación de cultivares de la especie se ubican en las décadas de 60 y 70. En el año 1976 el CIAAB liberó cuatro cultivares de la especie (Carámbula et al., 1978), de los cuales “Chirú” aun subsiste como cultivar de uso público. Hasta la década del 80 prosiguen los trabajos de ajuste tecnológico (Coll, 1991) pero estos cesan por falta de demanda del cultivar. En la actualidad no existe producción de semilla comercial en el país. Por otro lado, los esfuerzos en Argentina han llevado a liberaciones más recientes de cultivares en la especie. Desde 1988 al presente se han liberado tres cultivares (ARGENTINA. MAGP, 2010), y Facultad de Agronomía de Universidad de Buenos Aires mantiene un programa de mejoramiento genético en la especie (Schrauf, 2003). También en el sudeste de Estados Unidos existe investigación en la caracterización agronómica para prospecciones en la especie, ya que es una alternativa de uso forrajero bastante generalizada en dicha región. Recientemente ha sido registrado el Cultivar “Sabine” (Burson et al., 2009). De cualquier manera las prospecciones y las caracterizaciones en la especie, aún a nivel de citotipos (Venuto et al., 2003) poco han aportado en contrarrestar las limitantes que subsisten para la utilización de cultivares de esta especie.

La variabilidad fenotípica es producto de la variabilidad genotípica en interacción con la variabilidad ambiental (Tamarin, 1996). Cuando se decide encontrar soluciones genéticas a limitantes productivas en especies vegetales de interés, al momento de hacer prospecciones de las mismas para evaluar la mayor cantidad posible de su diversidad genética, es necesario conocer el tipo reproductivo y la distribución

geográfica de su variabilidad genética (Speranza, 2005a). Se han realizado en la especie caracterizaciones fenotípicas de diversa índole. Varias caracterizaciones identifican variabilidad fenotípica para los biotipos de distinto nivel de ploidía (Burson et al. 1991, Nuciari y Alonso 2003, Venuto et al. 2003, Alonso y Monterrubianesi 2006, Couso et al. 2010), pero aquellas que incluyen en las caracterizaciones a accesiones dentro de los distintos biotipos, o aún a accesiones del biotipo “común” no toman en cuenta la variabilidad genética que posiblemente ocurre entre y dentro de las accesiones (Cicardini et al. 1982, Burson et al. 1991, Loreti et al. 2001, García et al. 2002, Nuciari y Alonso 2003, Venuto et al. 2003, Alonso y Monterrubianesi 2006, Couso et al. 2010).

La primera prospección en la especie que supone diferencias genéticas intraespecíficas como base de la variabilidad fenotípica es la realizada por Millot en el año 1969. Posteriormente algunos trabajos profundizan las exploraciones genéticas a nivel intrabiotípico en la especie (Miz y de Souza-Chiez, 2006) aludiendo a las fuentes de variabilidad genética debidas a las posibles hibridaciones entre materiales apomícticos y fuentes sexuales (Machado et al., 2006).

La exploración de germoplasma de *P. dilatatum* Poir. a través de la utilización de marcadores moleculares de elevada precisión, con una estrategia de muestreo que toma en cuenta el tipo reproductivo e hipótesis sobre la distribución geográfica de su diversidad genética, ha derivado en una nueva interpretación de la identificación de variabilidad genética dentro de la especie. Utilizando este enfoque Speranza (2005a, 2005b) encuentra que dentro del biotipo pentaploide apomíctico “común”, se encuentra un clon dominante denominado “clon común”, de amplia distribución geográfica, con variaciones genéticas a nivel mutacional, y genotipos recombinantes entre dicho clon dominante y citotipos autógamos alotetraploides. Estos últimos son de distribución restringida a las regiones geográficas en que ambos son simpátricos, donde algunas poblaciones naturales son multiclonales. Dichos materiales híbridos naturales son alopentaploides apomícticos, genéticamente distintos entre sí. En función del citotipo

sexual con el cual el clon “común” hibridó, los híbridos naturales se agrupan en distintos grupos genéticos. Los materiales del grupo genético “A” son híbridos entre *P. dilatatum* Poir. citotipo tetraploide “Virasoro” y el clon “común”. El grupo genético “B” congrega híbridos entre *P. dilatatum* Poir. *ssp. flavescens* y “común”. Los materiales del grupo genético “C” son interpretados como híbridos entre un antecesor sexual desconocido y el clon “común”. Los citotipos alohexaploides naturales apomícticos “Chirú” y “Uruguayana” también surgen de hibridaciones entre el clon “común” y, en este caso, progenitores diploides desconocidos probablemente relacionados a *Paspalum quadrifarium* Lam. (Speranza, 2005a, 2005b, ver Figura No. 1).

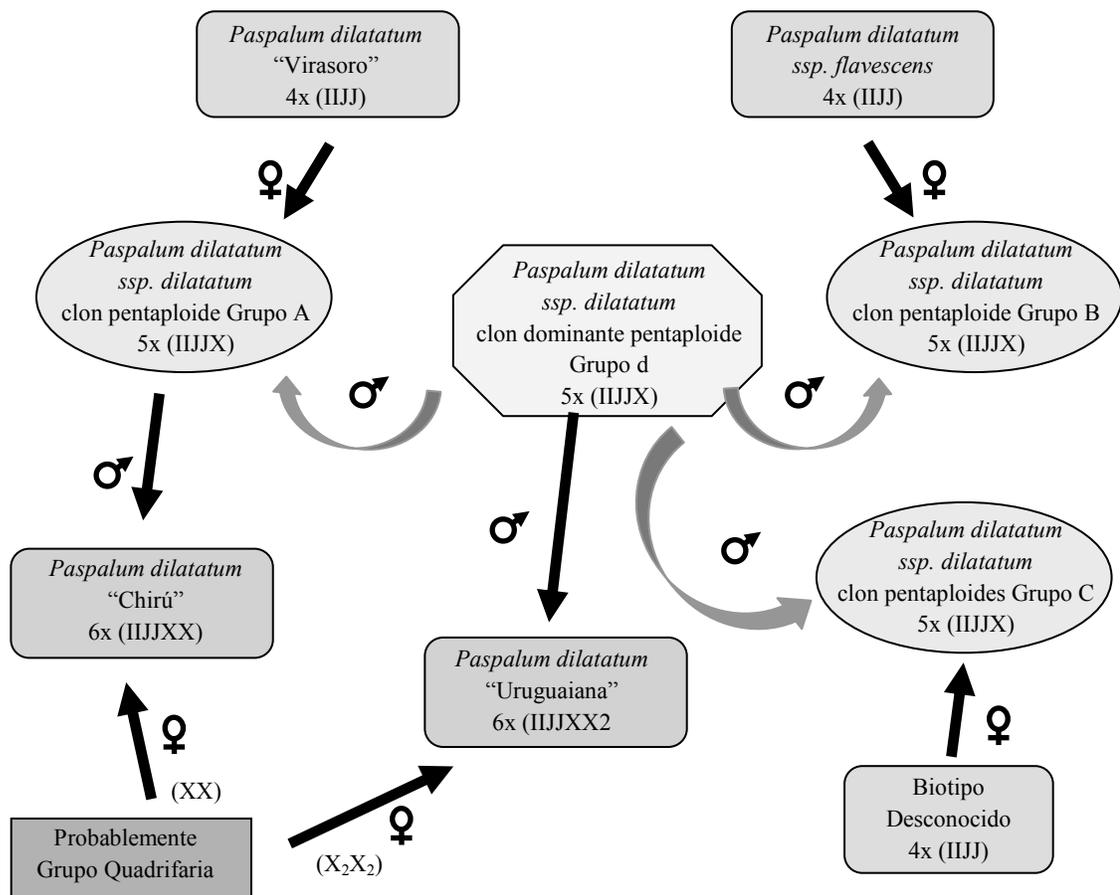


Figura No 1: Representación esquemática de los orígenes genéticos de los biotipos recombinantes pentaploides y biotipos hexaploides (adaptado de Speranza, 2009).

El estado de conocimiento sobre la variabilidad genética de la especie y su distribución sugiere que las prospecciones de variabilidad genética se realicen sobre una base de análisis de la variabilidad probable a encontrar en la región, y que se explore en función de las fuentes de la misma. Al momento de caracterizar las accesiones, debido a la naturaleza multiclonal de algunas poblaciones, es necesario individualizarlas en clones diferentes genéticamente, y evaluarlos por separado (Speranza, 2005b, 2009).

2.5 HIPÓTESIS

Existen diferencias a nivel de las características Filocrón y Tasa de Elongación Foliar para los materiales genéticos comprendidos en la colección de *Paspalum dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía, UdelaR.

Las diferencias en Filocrón y Tasa de Elongación Foliar están distribuidas mayormente entre los tres niveles de ploidía que dentro de estos, al agrupar los materiales genéticos en función de dicha característica genética.

Las diferencias en Filocrón y Tasa de Elongación Foliar están distribuidas mayormente entre los distintos grupos genéticos para el nivel de ploidía pentaploide que dentro de estos.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS EXPERIMENTALES Y MATERIAL VEGETAL

El presente trabajo se realizó sobre la colección actualizada de la especie *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía, UdelaR. El experimento se encuentra ubicado en el campo experimental de dicha institución, en Avda. Garzón 780 (34°50' Lat. Sur; 56°13' Long. Oeste), Montevideo, Uruguay. El período experimental tuvo lugar desde el 16 de octubre de 2006 hasta el 22 de diciembre de 2006.

La colección a campo contiene 39 genotipos representando el mayor nivel de variabilidad genética en la especie. La misma está compuesta por variantes mutacionales del “clon común”; clones recombinantes de los tres grupos genéticos identificados; biotipos tetraploides sexuales; biotipos hexaploides apomícticos e híbridos artificiales pentaploides a partir de los biotipos tetraploides sexuales y los biotipos hexaploides apomícticos (Vaio et al., 2007) (Cuadro No. 1 y Anexo No. 1).

Cuadro No. 1: Cantidad de materiales genéticos por tipo de material genético, su nivel de ploidía, y el grupo genético al cual pertenecen para el caso de los pentaploides.

| Tipo de material genético | Nivel de ploidía | Grupo genético | No de genotipos |
|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| Var. mutacionales | 5x | D | 13 |
| Recombinantes | 5x | A | 3 |
| Recombinantes | 5x | B | 4 |
| Recombinantes | 5x | C | 6 |
| Citotp tetrap sex | 4x | | 2 |
| Citotp hexapl | 6x | | 2 |
| Híbridos artificiales | 5x | | 9 |
| | | Total | 39 |

Para la instalación de la colección en el experimento a campo se utilizó un diseño experimental de bloques generalizado, con 2 repeticiones para cada genotipo por bloque. Los genotipos son representados por accesiones, correspondientes a plantas aisladas, ubicadas dentro de cada bloque en hileras a una distancia de 0,60 m entre plantas y 0,90 m entre hileras. Al momento de instalar el ensayo la asignación del lugar físico para cada unidad experimental dentro de cada bloque fue de forma aleatoria (Anexo No. 2).

El ensayo se encuentra instalado sobre un suelo Brunosol Subéutrico Típico (Anexo No. 3) de la Serie Sayago (URUGUAY. MAP. DSF, 1976), situada sobre la formación geológica Libertad (Bossi y Ferrando, 2001). En el otoño previo a la realización del experimento se procedió a limpiar el área donde está instalada la colección, quitando todo material vegetal que no fuera el de las accesiones del

experimento. En ese momento también se realizó una fertilización con el equivalente a 50 Kg. ha⁻¹ de N-P-K. Posteriormente, en la primavera se llevaron a cabo las mismas tareas de limpieza y fertilización. Previo, y durante el período experimental, se mantuvo en el ensayo un balance hídrico positivo, a través de riegos periódicos ajustados a demandas calculadas. De esta manera las accesiones se mantuvieron en condiciones no restrictivas de disponibilidad hídrica, de nutrientes, ni en condiciones de competencia.

3.2 VARIABLES METEOROLÓGICAS

Facultad de Agronomía posee una estación meteorológica próxima a la ubicación del ensayo. Para el período experimental, se cuenta con registros diarios de Temperatura Máxima (TMX), Temperatura Mínima (TMN), Temperatura media (TM) y Precipitación (Anexo No. 4).

Las variables calculadas en este trabajo fueron sobre una escala de tiempo térmico. El tiempo térmico se cuantifica a través del cálculo de Grados Día (GD), a una escala temporal diaria. Este es definido como el umbral térmico diario entre la temperatura media diaria y la temperatura base de crecimiento característica de la especie. Con los registros de temperatura media diaria y una temperatura base para la especie en cuestión de 8 °C (Lemaire y Agnusdei, 2000) se calcularon los GD y los GD acumulados para los 68 días del período experimental. Los valores de GD y GDA para el período experimental se presentan en el Anexo No. 4. Las fórmulas de cálculo para los GD y GDA son:

$$GD_i = (TM_i - TB)$$

TM_i = Temperatura media del i-ésimo día entre el 16/10/2006 y el 22/12/2006.

TB = Temperatura base de la especie en cuestión.

$$GD_i = (^\circ\text{C } \text{día}^{-1})$$

$$GDA_i = \sum_{i=16/10/2006}^{y=n} (TM_i - TB)$$

TM_i = Temperatura media del i-ésimo día entre el 16/10/2006 y el 22/12/2006.

TB = Temperatura base de la especie en cuestión.

n = Día comprendido entre 16/10/2006 y el 22/12/2006 hasta el cual se acumulan los GD.

$$GDA_i = (^\circ\text{C} \cdot \text{día}^{-1})$$

3.3 VARIABLES VEGETALES

3.3.1 Medidas morfométricas

Previo al inicio del período experimental, en cada unidad experimental se eligieron de forma aleatoria tres macollos en estado de desarrollo vegetativo temprano (con las primeras hojas completamente desarrolladas) y se los marcó con “alambres de colores” para distinguirlos dentro de la planta. Una vez por semana durante todo el período experimental, sobre cada macollo marcado de cada accesión se registraron las siguientes medidas morfométricas:

Longitud de lámina de hojas elongadas: Para todas las láminas de las hojas elongadas de cada macollo marcado en cada planta, se registró con regla milimetrada largo de lámina desde la lígula de la hoja hasta la punta de la lámina.

Ancho de láminas de hojas elongadas: A las láminas de las hojas elongadas se les registró su ancho máximo con regla milimetrada.

Longitud de láminas de hojas en crecimiento: Para las láminas de las hojas en crecimiento se registró su largo, desde la lígula de la última hoja previa elongada hasta la punta de la lámina de la hoja en medición.

Cantidad de hojas por macollo: Para todos los macollos marcados se registró en cada momento de medición la cantidad de hojas elongadas y en crecimiento.

3.3.2 Cálculo de variables morfogénéticas

Filocrón: Para cada macollo de cada repetición de cada genotipo se ajustó una función lineal entre la cantidad de hojas elongadas por macollo por fecha de medición en función de los GD acumulados en el período experimental. Dicho procedimiento se realizó según el modelo de filocrón propuesto por Kiniry (1991), por McMaster y Wilhelm (1997). La pendiente de la función lineal ajustada para cada macollo es el valor de la tasa de aparición de hojas. El filocrón por macollo fue calculado como la inversa de la tasa de aparición de hojas. El filocrón promedio por repetición surge de la media ajustada obtenida de los valores de filocrón de los tres macollos de cada repetición.

Tasa de elongación foliar: La evolución de largo foliar por macollo, presenta un comportamiento sigmoideo. Para los datos de largo foliar por macollo en función de los GD acumulados se ajustó para cada macollo de cada repetición un modelo de regresión segmentado. De esta manera, sobre la recta de la etapa lineal de la evolución del largo foliar por macollo se obtuvo la pendiente. Este valor estima la tasa de elongación foliar por macollo. El valor de las tasas de elongación foliar por repetición surge de la media ajustada de los valores de TEF de los tres macollos medidos para cada repetición.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.4.1 Hipótesis

Para estudiar el efecto del nivel de ploidía y del grupo genético al cual pertenece cada genotipo sobre la distribución de la variabilidad genética para las variables en estudio se plantearon las siguientes hipótesis estadísticas:

- Hipótesis I: La varianza para las variables Filocrón y TEF es mayor entre niveles de ploidía que dentro de estos.
- Hipótesis II: Para los genotipos de nivel de ploidía pentaploide la varianza para las variables Filocrón y TEF es mayor entre grupos genéticos que dentro de grupos.

Debido a las características genéticas de dicha colección, y a las hipótesis planteadas en este trabajo, para el análisis estadístico se definieron modelos estadísticos mixtos y se utilizó un diseño estadístico anidado donde:

Para la Hipótesis I todos los materiales de nivel de ploidía pentaploide fueron agrupados según su grupo genético. Se determinó el modelo estadístico donde se definió como factor fijo al grupo genético, y como variables aleatorias a los genotipos anidados dentro del grupo genético.

Para la Hipótesis II todos los materiales genéticos fueron agrupados según su nivel de ploidía. Para esta hipótesis se definió el modelo estadístico donde el factor nivel de ploidía fue definido como fijo, y genotipo se consideró como variable aleatoria, anidada al factor nivel de ploidía.

También se analizaron las diferencias en Filocrón y TEF para los 39 genotipos.

3.4.2 Modelos estadísticos

Hipótesis I:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \gamma_{k(j)} + \delta_{l(ijk)} + \varepsilon_{l(ijk)}$$

Y_{ijkl} : Filocrón en $\text{GD} \cdot \text{hoja}^{-1}$ - TEF en $\text{mm} \cdot \text{GD}^{-1}$

Términos del modelo:

μ : Media poblacional.

β_i : Efecto del i -ésimo bloque.

α_j : Efecto del j -ésimo nivel de ploidía.

$\gamma_{k(j)}$: Efecto del k -ésimo genotipo anidado al j -ésimo nivel de ploidía.

$\delta_{l(ijk)}$: Efecto de la l -ésima planta anidada al k -ésimo genotipo y al j -ésimo nivel de ploidía.

$\varepsilon_{l(ijk)}$: Error residual.

“ γ ” y “ δ ”: Variables aleatorias.

Hipótesis II:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \gamma_{k(j)} + \delta_{l(ijk)} + \varepsilon_{l(ijk)}$$

Y_{ijkl} : Filocrón en $\text{GD} \cdot \text{hoja}^{-1}$ - TEF en $\text{mm} \cdot \text{GD}^{-1}$

Términos del modelo:

μ : Media poblacional.

β_i : Efecto del i -ésimo bloque.

α_j : Efecto del j -ésimo grupo genético.

$\gamma_{k(j)}$:Efecto del k -ésimo genotipo anidado al j -ésimo grupo genético.

$\delta_{l(ijk)}$:Efecto de la l -ésima planta anidada al k -ésimo genotipo y al j -ésimo grupo genético.

$\epsilon_{l(ijk)}$: Error residual.

“ γ ” y “ δ ”: Variables aleatorias.

Con los resultados agrupados de esta manera, para las dos variables estudiadas se realizaron los análisis anidados de varianza a través del procedimiento “General Lineal Model”. Para los casos en que las pruebas de efecto del nivel de ploidía y grupo genético mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) se realizaron test protegidos de Fisher a través de pruebas de comparación de medias Tukey-Kramer. Para todos los análisis estadísticos realizados se utilizó el software SAS (2004).

4 RESULTADOS

4.1 FILOCRÓN

4.1.1 Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad genética para filocrón

Las diferencias entre los valores de filocrón de los genotipos de los distintos niveles de ploidía no fueron estadísticamente significativas ($p=0,09$). Tampoco lo fueron las diferencias para los valores de los genotipos dentro de cada nivel de ploidía ($p=0,17$), (Cuadro No. 2).

Cuadro No. 2: Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto del Nivel de ploidía sobre el filocrón. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(nivel de ploidía).

| F. de Var. | Gr. de Lib. | SC | CM | Valor de F | Pr > F |
|--------------------|-------------|----------|---------|------------|--------|
| Nivel de Ploidía | 2 | 2060,31 | 1030,16 | 2,53 | 0,09 |
| Genotipo (Ploidía) | 36 | 14679,07 | 407,75 | 1,36 | 0,17 |

El análisis de los valores de F, obtenidos en el análisis de varianza, es otra forma de comparar las magnitudes de las varianzas de los resultados de filocrón para las dos fuentes de variación: Nivel de Ploidía y Genotipo anidado a Nivel de Ploidía. Para cada fuente de variación el valor de F se obtiene de los cuadrados medios de la fuente de variación sobre los cuadrados medios del término de error para ese factor. Para Nivel de Ploidía F se obtiene del cuadrado medio de este término sobre el cuadrado medio de su término de error, en este caso Genotipo anidado a nivel de ploidía. O sea que el valor de F es una proporción entre las varianzas de los términos estudiados. Por lo tanto el valor de F del factor Nivel de Ploidía indica que la varianza de los valores de filocrón

de los materiales genéticos de los distintos niveles de ploidía es 2,53 veces mayor que la varianza de los valores de filocrón para los genotipos dentro de cada nivel de ploidía. De esta manera aunque las diferencias en los valores de filocrón entre los materiales de los distintos niveles de ploidía no sean estadísticamente significativas, al igual que para las diferencias entre el filocrón de los genotipos de cada nivel de ploidía, la variabilidad genética para los valores de filocrón entre los tres niveles de ploidía es 2,53 veces mayor que la variabilidad genética para los valores de filocrón de los genotipos de cada nivel de ploidía.

Cuadro No. 3: Media ajustada de filocrón para el factor nivel de ploidía.

| N. Ploidía | Filocrón (GD*Hoja⁻¹) |
|-------------------|--|
| 4 | 82,83 |
| 5 | 101,17 |
| 6 | 101,44 |

Si bien los resultados de las medias ajustadas de filocrón para cada nivel de ploidía no fueron estadísticamente diferentes ($p=0,09$), con lo cual no se realizó prueba de comparación de medias, estas presentan un patrón claro de variación. En el cuadro No. 3 se muestra que las medias ajustadas de la variable filocrón fueron mayores a medida que el nivel de ploidía de los materiales aumenta.

4.1.2 Efecto del grupo genético sobre la variabilidad genética para filocrón

Las diferencias entre los valores de filocrón de los genotipos de los distintos grupos genéticos fueron estadísticamente significativas ($p=0,005$), pero no se encontraron diferencias significativas para esta variable entre genotipos dentro de cada grupo genético ($p=0,49$) (Cuadro No. 4). En lo que respecta a la interpretación de los

valores de F del análisis de varianza, para la fuente de variación grupo genético el valor de F estimado es 4,21. La varianza de los valores de filocrón de distintos grupos genéticos es 4,21 veces mayor que la debida a los valores de filocrón de los genotipos dentro de cada grupo.

Cuadro No. 4: Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto del grupo genético sobre el filocrón. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(grupo).

| F. de Var. | Gr. de Lib. | SC | CM | Valor de F | Pr > F |
|---------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------------|------------------|
| Grupo Genético | 5 | 6291,31 | 1258,26 | 4,21 | 0,005 |
| Genotipo (Grupo) | 29 | 8668,78 | 298,92 | 1,00 | 0,499 |

En lo que respecta a la prueba de comparación de medias, los únicos grupos genéticos que difieren estadísticamente en sus valores de filocrón promedio son el grupo recombinante “B” con el grupo recombinante “C”, y con el híbrido artificial “fch” (Cuadro No. 5).

Cuadro No. 5: Media ajustada de filocrón para el factor grupo genético y prueba de comparación de medias. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p=0,05$).

| Grupo Genético | Filocrón (GD*Hoja⁻¹) | DMS |
|-----------------------|--|------------|
| B | 92,41 | A |
| vch | 96,11 | abc |
| d | 98,52 | abc |
| A | 99,15 | abc |
| C | 108,1 | Bc |
| fch | 113,35 | C |

4.1.3 Filocrón para los 39 genotipos

La colección evaluada presenta para filocrón un rango de valores amplio. Como se puede ver en el anexo No. 5 los resultados de filocrón, para los 39 materiales genéticos, abarcan un rango de valores desde 81,88 GD/hoja hasta 127,47 GD/hoja. Si bien los genotipos no mostraron diferencias significativas para la característica, la diferencia entre los dos límites de este rango de valores corresponde a un aumento de un 64% en la cantidad de tiempo térmico que hay en el intervalo entre la aparición de una hoja y la subsiguiente, para el material de mayor filocrón respecto del material de menor filocrón.

4.2 TASA DE ELONGACIÓN FOLIAR

4.2.1 Efecto del nivel de ploidía sobre la variabilidad genética en TEF

Las diferencias en los valores de TEF para los genotipos entre los 3 niveles de ploidía no fueron significativas al igual que para las diferencias entre genotipos dentro

de cada nivel de ploidía ($p=0,18$) (Cuadro No. 4). De cualquier manera el valor de F estimado para el test de hipótesis del análisis de varianza realizado es 1,60 (Cuadro No. 6). Esto muestra que, si bien entre los materiales de los distintos niveles de ploidía no existen diferencias significativas para TEF la varianza de la variable está mayormente distribuida entre los distintos niveles de ploidía y no dentro de ellos, ya que la varianza para los valores de filocrón entre los distintos niveles de ploidía es 1,70 veces mayor que para los valores dentro de cada grupo genético.

Cuadro No. 6: Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto nivel de ploidía sobre TEF. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(ploidía).

| F. de Var. | Gr. de Lib. | SC | CM | Valor de F | Pr > F |
|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------------|------------------|
| Nivel de Ploidía | 2 | 4546,91 | 2273,46 | 1,60 | 0,22 |
| Genotipo (Ploidía) | 36 | 51265,99 | 1424,06 | 1,35 | 0,18 |

La prueba de comparación de medias evidencia que no existen diferencias significativas entre las medias ajustadas de los distintos niveles de ploidía para esta característica ($p=0,22$), a diferencia de los resultados obtenidos para filocrón. Además de no existir diferencias significativas entre los valores medios de TEF de cada nivel de ploidía, tampoco existió un patrón claro de variación de los valores de TEF promedio para cada nivel de ploidía en función de la variación de la ploidía de los materiales (Cuadro No. 7). El valor de TEF promedio para el nivel de ploidía pentaploide es menor al del nivel de ploidía tetraploide. El valor para el nivel hexaploide es mayor que para el grupo pentaploide, y también aún mayor al del nivel tetraploide.

Cuadro No. 7: Media ajustada de TEF para el factor nivel de ploidía

| N. Ploidía | TEF (mm*GD⁻¹) |
|-------------------|-------------------------------------|
| 4 | 24,6 |
| 5 | 22,10 |
| 6 | 26,19 |

4.2.2 Efecto del grupo genético sobre la variabilidad genética para TEF

Los resultados obtenidos en el estudio de la distribución de la variabilidad genética para TEF a nivel de grupo genético, para los materiales de nivel de ploidía pentaploide, nos muestran que las diferencias en la variable para los genotipos entre distintos grupos genéticos son estadísticamente significativas ($p=0,001$), y no lo son para los genotipos dentro de cada grupo genético ($p=0,74$) (Cuadro No. 8). La varianza de TEF entre grupos genéticos es 5,51 veces mayor a la varianza de la variable dentro de los grupos genéticos, según lo demuestra el valor de F. De esta manera la variabilidad genética para esta característica esta distribuida mayormente entre grupos genéticos.

Cuadro No. 8: Análisis de varianza anidado para test de hipótesis para el efecto grupo genético sobre TEF. Suma de cuadrados tipo III. Término de error: genotipo(grupo).

| F. de Var. | Gr. de Lib. | SC | CM | Valor de F | Pr > F |
|-------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------------|------------------|
| Grupo Genético | 5 | 4,03 | 0,80 | 5,51 | 0,001 |
| Genotipo (Grupo) | 29 | 4,24 | 0,15 | 0,79 | 0,74 |

En lo que refiere a resultados de la prueba de comparación de valores medios de TEF para los distintos grupos genéticos, los grupos “A” y “C” difieren estadísticamente de los grupos “fch”, “B” y “vch” en sus valores de TEF. El grupo “vch” difiere con todos los demás grupos en su valor de TEF (Cuadro No. 9).

Cuadro No. 9: Media ajustada de TEF para el factor grupo genético y prueba de comparación de medias. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p=0,05$).

| Grupo Genético | TEF (mm*GD⁻¹) | DMS |
|-----------------------|---------------------------------|------------|
| A | 24,24 | a |
| C | 25,09 | a |
| d | 26,54 | ab |
| fch | 29,11 | bc |
| B | 29,64 | c |
| vch | 43,30 | d |

4.2.3 Valores de TEF para los 39 genotipos

Los valores de TEF a nivel de cada genotipo individual no arrojan diferencias significativas entre sí, de la misma manera que para lo que sucede con los valores de Filocrón. Sin embargo el rango de valores de TEF es más amplio que para el caso de filocrón. Los valores de TEF para los 39 genotipos van desde los 15,5 mm*GD⁻¹ hasta los 29,63 mm*GD⁻¹ (ver anexo No. 6), un rango de variación de 91 %.

5 DISCUSIÓN

5.1 EFECTOS DEL NIVEL DE PLOIDÍA SOBRE LA MORFOGÉNESIS

5.1.1 Efecto del nivel de ploidía sobre el filocrón

5.1.1.1 Validación de los valores de filocrón para los distintos niveles de ploidía

Dada la identidad genética de los valores de filocrón para cualquier material genético es de interés contrastar los valores obtenidos en el presente trabajo con los encontrados en la literatura. La única referencia de cuantificación del filocrón para algún material de nivel de ploidía pentaploide de *P. dilatatum* Poir. *ssp. dilatatum* es la del trabajo de Lemaire y Agnusdei (2000). Estos autores publican para el biotipo pentaploide “común”, un valor de filocrón de 180 GD (Temperatura base de 8,2 °C) obtenido en otoño e invierno, al sur de la Pampa húmeda, Argentina. El valor promedio para los materiales pentaploides obtenido en nuestro trabajo es de 101,17 GD (Tb de 8,0 °C). Dentro de la colección analizada existen varias accesiones naturales e híbridos artificiales pentaploides con valores por encima de este promedio, con el valor más extremo de 127,47 GD para un híbrido pentaploide artificial. Pero aún así el valor de 180 GD está muy por encima del filocrón de cualquier material pentaploide estudiado en el presente trabajo.

Si bien la población natural estudiada por Lemaire y Agnusdei (2000) era de la especie *P. dilatatum* Poir. biotipo “común”, no se sabe con exactitud la identidad genética de las plantas analizadas. De acuerdo con los resultados de Speranza (2009) una población natural del biotipo “común” podría estar compuesta por clones del citotipo pentaploide apomítico, con lo cual podríamos comparar estos valores con los obtenidos para el promedio de los materiales del citotipo grupo “d”. El valor promedio del grupo “d” es menor al valor obtenido por Lemaire y Agnusdei (2000). Pero además cual sugiere Speranza (2009), en estas poblaciones pueden existir híbridos pentaploides

naturales entre el clon común y subespecies tetraploides sexuales, si estas se encuentran en la región donde ambos citotipos coexisten. Este hecho también sería aplicable para el caso de Lemaire y Agnusdei (2000) dada la ubicación geográfica de la población donde realizaron el experimento. Además los posibles híbridos existentes no serían genéticamente iguales a los de la colección en estudio. Cabe destacar que en nuestra colección los híbridos naturales de los distintos grupos genéticos tuvieron filocrones significativamente diferentes. Por lo tanto al intentar contrastar los resultados obtenidos en nuestro trabajo con antecedentes de caracterización a través de filocrón de materiales con la mayor similitud genética posible a los nuestros estamos comparando la media ponderada del filocrón para los materiales pentaploides de la colección en estudio contra un valor de filocrón presentado en un antecedente, cuyo nivel de ploidía es pentaploide, mas su identidad genética es incierta. Esta puede ser una fuente de variación de dichos resultados respecto de los nuestros.

Por otro lado la metodología de obtención del filocrón en el presente trabajo podría ser otra fuente de variación respecto a los filocrones encontrados en la bibliografía para el biotipo pentaploide “común”. El filocrón para macollos en etapa reproductiva disminuye en relación al mismo en etapa vegetativa (Gonzalez y Xavier, 2000). En el presente trabajo el filocrón fue obtenido tomando en cuenta la cantidad de hojas totales aparecidas hasta floración, por lo tanto se obtuvo un filocrón general para todo el ciclo de vida del macollo. De esta manera el hecho de incorporar al cálculo del filocrón el período posterior a la inducción floral provoca que el filocrón promedio sea menor al valor promedio, si el mismo hubiera sido cuantificado solo para la etapa vegetativa.

A los efectos de contrastar los valores de filocrón obtenidos para los citotipos tetraploides de la colección estudiada con valores de filocrón para materiales tetraploides del género, en la bibliografía no se encontraron antecedentes de cuantificación de filocrón para los citotipos estudiados. Eggers et al. (2004) publican para clones del

citotipo autotetraploide apomítico de *Paspalum notatum* Flüge. un filocrón de 156 GD. Quadros y Bandinelli (2005) obtienen para *Paspalum urvillei* Steud., valores de filocrón entre 197 y 207 GD (temperatura base: 8 °C). Cualquiera de las dos especies tiene valores de filocrón sensiblemente superiores al promedio obtenido para los materiales de nivel de ploidía tetraploide de este experimento, el cual fue de 82,83 GD. Incluso el ecotipo tetraploide “Virasoro”, el cual tuvo el mayor filocrón para los materiales tetraploides, presentó un filocrón de 86,8 GD, el cual es un 50% inferior al reportado para *P. notatum* Flüge.

En cuanto a la similitud genética de los materiales contrastados a nivel de ploidía tetraploide, *P. notatum* Flüge. es filogenéticamente muy distante de los citotipos de la colección analizada (Rua et al., 2010). Esto podría dar una explicación de cuan distinto es el filocrón para esta especie respecto del de los citotipos tetraploides estudiados. En lo que respecta a la diferencia entre el valor de filocrón de *P. urvillei* Steud. y el valor promedio para los materiales tetraploides de nuestro experimento, *P. urvillei* Steud. es un miembro del grupo Dilatata, filogenéticamente muy cercano a *P. dilatatum ssp dilatatum* Poir. (Rua et al., 2010). *P. urvillei* Steud. presenta una amplia distribución geográfica y gran variabilidad genética en comparación a los otros materiales tetraploides (Speranza, 2009). Existen varias especies gramíneas alógamas de amplia distribución geográfica, con variabilidad ecotípica o interpoblacional, como *Panicum virgatum* L. (Gunter et al. 1996, Huang et al. 2003), *Lolium* sps (Balfourier et al. 2000, Peter-Schmid et al. 2008) o *Andropogon gerardii* Vitman. (Gustafson et al., 1999) donde la diversidad genética intrapoblacional es de gran significancia, pero más aún lo es entre poblaciones. La misma se ve reflejada en variaciones en el filocrón entre materiales de distintos orígenes dentro de cada especie, considerando un mismo tipo de respuesta a la temperatura para estos (Hazard et al. 1994, Van Esbroeck et al. 1997). El considerar un mismo tipo de respuesta para la estimación del filocrón para distintos materiales genéticos sería otra manera de incurrir en errores de comparación de valores de filocrón, lo cual ocultaría variabilidad genética para este, ya que no se toma en cuenta

el hecho de que muchas veces variabilidad genética intraespecífica se expresa en variaciones en sus temperaturas bases, al provenir los distintos ecotipos de diferentes regiones ecogeográficas y estar adaptados a dichas diferencias (Unruh et al. 1996, Padilla y Otegui 2005).

Otra fuente de variación para los valores de filocrón encontrados en la bibliografía para materiales tetraploides respecto de los obtenidos en el trabajo es la metodología de cuantificación de los GD. En el trabajo de Eggers et al. (2000) no se utilizó una temperatura base para el cálculo de los GD, ya que la misma no está definida experimentalmente para la especie. Los GD fueron calculados a través de la sumatoria de las temperaturas medias diarias para el período de evaluación, asumiendo que estas eran siempre por encima de la temperatura base. Esto traería aparejado estimaciones sesgadas del filocrón y por lo tanto comprometería la exactitud de los valores (Bonhomme 2000, Gramig y Stoltenberg 2007). De esta manera la temperatura base usada es cero, por lo que el filocrón de los trabajos de Eggers et al. (2000) es sensiblemente mayor al que se hubiera obtenido usando una temperatura base adecuada a esas circunstancias.

5.1.1.2 Efecto del nivel de ploidía sobre el filocrón

En el análisis del efecto del Nivel de Ploidía sobre la variabilidad genética para el Filocrón no se confirmó de manera estadística la hipótesis planteada en el presente trabajo de que la variabilidad genética para esta característica es mayor entre los genotipos de los distintos niveles de ploidía que para los genotipos dentro de cada nivel de ploidía. Sin embargo el valor de F para el factor grupo genético mostró que la variabilidad para esta característica es mayor entre los genotipos de los distintos niveles de ploidía que entre los genotipos dentro de estos. Los resultados también mostraron que a medida que los genotipos aumentan el nivel de ploidía tetraploide a hexaploide su filocrón aumenta, aunque las diferencias no son de significancia estadística.

Existen trabajos experimentales que muestran lo contrario a los resultados obtenidos en nuestro trabajo. El trabajo realizado por Couso et al. (2010) es el único que compara distintos materiales dentro de la especie *P. dilatatum* Poir. para características morfogénicas. En dicho trabajo el cultivar tetraploide “Primo” presenta una menor TAF que los materiales pentaploides “Relincho” y “Alonso”. Dado que el filocrón se calcula como la inversa de la TAF (Wilhelm y McMaster, 1995) “Primo” presentaría un mayor filocrón que ambos materiales pentaploides. Si bien estos resultados contradicen los obtenidos en nuestro trabajo cabe resaltar que “Primo” es un material producto de cruzamientos artificiales. El padre donante del retrocruzamiento que generó al cultivar “Primo” es la especie *P. urvillei* Steud. En las caracterizaciones que Quadros y Bandinelli (2005) realizaron sobre determinadas poblaciones de *P. urvillei* Steud. se determinaron filocrones mayores a los obtenidos para los citotipos tetraploides en el presente trabajo por lo cual el filocrón de “Primo” podría ser mayor al de los materiales tetraploides de nuestro trabajo debido a su constitución genética. Al igual que en el antecedente anterior los resultados de Maceira et al. (1993) muestran menores filocrones en los materiales de mayor nivel de ploidía. Dado el cometido del experimento de Maceira et al. (1993), los resultados obtenidos en el mismo se vieron muy influenciados por las situaciones de competencia intraplanta. Los materiales tetraploides fueron superiores competitivamente a los diploides al punto que muchas de sus plantas llegaron a morirse, lo que interfirió con el efecto del incremento en el nivel de ploidía sobre el filocrón (Brettagnolle y Thompson, 1996).

A diferencia de lo planteado en el párrafo anterior, otros antecedentes concuerdan con nuestros resultados y los incrementos en los valores de filocrón de distintos materiales genéticos se acompañan a incrementos en el nivel de ploidía. En las referencias de Bultynck et al. (2004) *Aegilops umbellulata* Zhuk. de nivel de ploidía diploide presenta un menor filocrón que los restantes materiales diploides, tetraploides y hexaploides de los géneros *Aegilops* y *Triticum*. En el trabajo de Brettagnolle y Thompson (1996), las diferencias en filocrón entre materiales autotetraploides y

diploides de *Dactylis glomerata* L. están significativamente distribuidas mayormente entre los dos niveles de ploidía y no dentro de ellos, y los filocrones de los materiales tetraploides son mayores a los de los diploides. Entre los distintos ambientes planteados en este experimento la magnitud de las diferencias varía pero la naturaleza de las mismas se mantiene, siempre los materiales tetraploides tienen mayores filocrones que los diploides. En nuestro trabajo aunque la variabilidad para la característica filocrón no haya estado distribuida mayormente entre los genotipos de los distintos niveles de ploidía, a medida que el nivel de ploidía aumentaba para los materiales estudiados también lo hicieron sus valores de filocrón.

5.1.2 Efecto del nivel de ploidía sobre la TEF

En nuestro trabajo no se confirmó la hipótesis de que la variabilidad para la TEF es mayor entre los genotipos de los distintos niveles de ploidía que para los genotipos dentro de cada nivel de ploidía. No siempre los incrementos en TEF promedio por Nivel de ploidía se correspondieron a incrementos en la TEF. Si bien al aumentar el nivel de ploidía de 4x a 6x hay un aumento de la TEF promedio al igual que para el aumento del nivel de ploidía de 5x a 6x, el valor de TEF promedio para los materiales de nivel de ploidía 5x es menor al de los 4x. Las pruebas de comparación de medias no mostraron diferencias significativas para estas variaciones.

Los antecedentes acerca de la variación de la TEF en relación al incremento del nivel de ploidía en general concluyen que a aumentos del nivel de ploidía la TEF aumenta. Para especies emparentadas de los géneros *Triticum* y *Aegilops*, de niveles de ploidía diploide, tetraploide y hexaploide, la TEF de hojas del macollo principal es mayor en las especies de cada vez mayores niveles de ploidía. Esta diferencia se incrementa aun más para niveles de inserción foliar mayores, y dicha diferencia sigue existiendo para macollos secundarios y terciarios (Bultynck et al., 2004). Por otra parte, en tres cultivares diploides y tres autotetraploides de dos especies de *Lolium*, Sugiyama

et al. (2005) encuentran que los aumentos en el nivel de ploidía entre cultivares diploides y tetraploides para cada especie explican los aumentos en la TEF entre dichos cultivares en mayor medida que la especie y el cultivar. Para las dos especies de gramíneas del género *Poa* con niveles de ploidía conocidos (Fiorani et al., 2000) las diferencias en TEF fueron de la misma naturaleza que para los ejemplos anteriores. Por otro lado los dos trabajos que resultaron incongruentes a los antecedentes anteriores, planteados en este párrafo, y concordantes con nuestros resultados son el de Maceira et al. (1993) y el de Couso et al. (2010). En el primero la TEF fue mayor para los materiales diploides que para los tetraploides. De cualquier manera ya hemos planteado la naturaleza de estos resultados. En el segundo caso la TEF fue mayor en casi todos los tratamientos para el material tetraploide respecto de los materiales pentaploides, pero también ya planteamos la particularidad de este experimento y de sus resultados.

En el trabajo con especies del género *Lolium* sp (Sugiyama et al., 2005) el aumento de la TEF es exclusivamente debido a los efectos directos del aumento en el nivel de ploidía. En cambio cuando se comparan distintos materiales de un complejo poliploide, como el de *Triticum-Aegilops* (Bultynck et al., 2004), el de *Poa* (Fiorani et al., 2000), el de *Paspalum* en Couso et al. (2010) o en nuestro estudio, se están comparando materiales de distintos niveles de ploidía pero además materiales alopoliploides donde muchas veces no comparten los mismos genomios, sino que genomios homeólogos, con sus consecuentes diferencias genéticas. Entonces, en estas comparaciones el efecto del aumento del nivel de ploidía *per se* se ve confundido por los efectos genéticos debidos a la alopoliploidía y a que los citotipos son de diversos orígenes genéticos. Si bien para Fiorani et al. (2000) Bultynck et al. (2004), los resultados aun se comportan de la misma manera que para Sugiyama et al. (2005) el caso de Couso et al. (2010) y el nuestro es un ejemplo de lo anterior. En concordancia con Couso et al. (2010) en nuestro caso el hecho de que los materiales tetraploides tuvieron una mayor TEF que los pentaploides puede estar debido a efectos de la alopoliploidía.

5.2 EFECTOS DEL GRUPO GENÉTICO SOBRE LA MORFOGÉNESIS

5.2.1 Efectos del grupo genético sobre el filocrón

El efecto del origen genético de los genotipos sobre la variabilidad genética para filocrón arrojó diferencias significativas (0,005). Se confirmó la hipótesis en relación a que la variabilidad genética para esta variable esta mayormente distribuida entre grupos genéticos que dentro de los mismos. Los antecedentes más cercanos a estos resultados son los obtenidos por Rodriguez (2010) en la misma colección analizada en el presente trabajo. En el trabajo de Rodriguez (2010) la variabilidad encontrada para descriptores morfológicos arroja diferencias significativas para los genotipos evaluados cuando estos son de grupos genéticos distintos. Esta información junto con los resultados obtenidos en nuestro trabajo es congruente con la estructura y la magnitud de la variabilidad genética de la colección, la cual fue descrita con marcadores moleculares por Speranza (2009).

Tal como se mostró en los antecedentes revisados se han realizado muchas caracterizaciones de variabilidad para filocrón en germoplasma de variadas especies de gramíneas. Para la diversidad genética del género *Zea* si bien hay algunos trabajos que encuentran variabilidad de importancia para filocrón como los de Tollenaar et al. (1979, 1984), Padilla y Otegui (2005), en otras prospecciones las dimensiones de esta son menores y a veces sin significancia estadística. Son ejemplo de esto los resultados obtenidos Warrington y Kanemasu (1983), Birch et al. (1998), Van Esbroeck et al. (2008). De manera similar, en sorgo la variabilidad encontrada por Craufurd et al. (1998) para Filocrón no fue de significancia en caracterizaciones de pocos materiales pero de orígenes genéticos muy diferentes (Clerget et al., 2008). Sin embargo en otras especies de gramíneas como trigo, Frank y Bauer (1995), Rebetzke y Richards (1999) demostraron que existe una amplia variabilidad para dicha característica, de la misma manera que en los resultados obtenidos por Teixeira da Silveira et al. (2010) en especies de los géneros *Brachiaria* y *Panicum*. Independientemente de la magnitud de la

variabilidad fenotípica encontrada, los resultados de estos trabajos de caracterizaciones de variabilidad fenotípica muestran rangos de variabilidad para filocrón, pero esta no está asociada a las características genéticas de las colecciones utilizadas, como indicadores de la diversidad genética representada. A diferencia de nuestro trabajo estas caracterizaciones son realizadas sobre la base de una exploración de rangos de variabilidad genética definidos por los tipos de materiales genéticos evaluados (híbridos nuevos o antiguos, variedades criollas, materiales ancestrales) o por sus orígenes genéticos. Pero las magnitudes de las diferencias genéticas son inciertas, y por lo tanto la variabilidad fenotípica cuantificada no se puede asociar a una determinada variabilidad genética.

Existen otros trabajos cuya lógica de realización cumple con las mismas premisas que los trabajos de caracterizaciones realizados en la colección de *P. dilatatum* Poir. de Facultad de Agronomía. En *Lolium perenne* L., *Festuca pratensis* L. y *D. glomerata* L., donde primero se cuantificó la magnitud de la variabilidad genética interespecífica e intraespecífica real a través de marcadores moleculares, Kölliker et al. (1999) pudieron ver que la variabilidad para filocrón, junto con otras características, fue capaz de describir la variabilidad genotípica entre especies, pero no entre genotipos ni cultivares dentro de cada especie. Bajo la misma lógica de trabajo de Kölliker et al. (1999), aunque en este caso encontrando niveles de variabilidad para Filocrón muy significativos, la caracterización realizada en *P. virgatum* L. por Van Esbroeck et al. (1997) es sobre una magnitud y distribución de la variabilidad genética descrita de manera previa a la caracterización fenotípica (Gunter et al., 1996), y corroborada posteriormente con metodologías moleculares (Huang et al., 2003). Cabe destacar que así como para cebada Dofing (1999), Borrás et al. (2009, 2010), y para arroz Morita et al. (2005) logran generar, a través de cruzamientos de materiales parentales de filocrón conocido, poblaciones que segregan ampliamente para el filocrón y con resultados de heredabilidad altos.

5.2.2 Efectos del grupo genético sobre la TEF

El análisis de los efectos del grupo genético al cual pertenece cada genotipo sobre la variabilidad genética para TEF, para los materiales pentaploides de nuestro trabajo, confirmó la hipótesis de que la variabilidad es significativa ($p=0,001$) y está distribuida entre grupos genéticos en mayor medida que dentro de estos. Estos resultados son nuevamente congruentes a los resultados obtenidos para la caracterización con descriptores morfológicos por Rodríguez (2010). En nuestro caso y en el de Rodríguez (2010) esta variabilidad se distribuyó acorde la estructura de la variabilidad genética definida por Speranza (2009) para *P. dilatatum* Poir.

De la misma forma que para nuestros resultados, las diferencias que Munns y James (2003) encuentran para la caracterización de TEF en la amplia diversidad genética de las cinco subespecies de *Triticum turgidum* L. en condiciones de stress salino o no, son significativas, aunque en este trabajo no se caracteriza la distribución de la variabilidad genética. Teixeira et al. (2010) también encuentran diferencias significativas para TEF entre cultivares de *Brachiaria* y *Panicum*, mayormente distribuidas entre cultivares de distintas especies. También son congruentes con nuestros resultados las diferencias significativas y la distribución de las mismas, presentadas por Parent et al. (2010), en la caracterización de TEF realizada para siete cultivares de arroz Tipo Japónica e Indica adaptados a diferentes ambientes ecogeográficos y pertenecientes a tipos distintos de las dos especies *Oriza sativa* L. y *Oriza glaberrima* Steudel. De la misma manera, en la caracterización de la respuesta al stress hídrico de materiales de *D. glomerata* L. realizada por Piano et al. (2004) la variabilidad en TEF está distribuida entre poblaciones, pero más aún entre las poblaciones de los dos orígenes.

En lo que respecta a variabilidad generada artificialmente por cruzamientos también se han descrito diferencias significativas. En maíz la caracterización de Reymond et al. (2003) en 100 líneas puras segregantes encontró diferencias

significativas para TEF entre cada línea pura. También en la población genotipeada de 120 líneas puras recombinantes de maíz Welcker et al. (2007) encontró diferencias significativas en la respuesta de la TEF al stress hídrico entre las distintas líneas puras. Cabe destacar que en estos dos últimos trabajos en maíz, los materiales sobre los que se estudió la variabilidad en la respuesta de la TEF al stress hídrico, estaban mapeados con marcadores moleculares y se obtuvieron QTLs asociados a la característica.

5.3 VALORES GENERALES DE FILOCRÓN Y TEF

Para especies en tempranas etapas de domesticación, o cuyo germoplasma se encuentra mayormente en estado salvaje o en colecciones y bancos de germoplasma, no se ha encontrado bibliografía que haya caracterizado fenotípicamente, mediante estas características, una cantidad tal de variabilidad genética natural, menos aún ya descrita molecularmente. Los trabajos que caracterizaron grandes cantidades de materiales para determinadas especies, lo cual no quiere decir que abarquen un amplio rango de diversidad genética, generalmente han sido aquellos que caracterizan en especies cultivadas variabilidad genética generada por cruzamientos (Dofing 1999, Weckler et al. 2007, Borrás et al. 2010), o en especies donde se ha explorado el germoplasma de la misma y sus especies emparentadas (Munns y James 2003, Van Esbroeck et al. 2008). Si bien la variabilidad genética natural en la colección en estudio, fue generada muchas veces también por hibridaciones, estos materiales no son progenies de una misma hibridación, si no que son distintos eventos evolutivos de generación de variabilidad, separados en tiempo y espacio por fenómenos de adaptación. Además ninguno de los trabajos discutidos anteriormente tuvieron rangos de variación para TEF y filocrón tan altos como los obtenidos en este trabajo (Anexos No. 4 y No. 5) aún para aquellos trabajos en los que el grado de variación era inter específico para especies del mismo género, o intra específico. Esto demuestra el grado de variabilidad genética para características morfogénicas en la especie y trae a colación que la variabilidad descrita para los grupos genéticos de *P. dilatatum ssp dilatatum* es comparable a

niveles de variabilidad fenotípica encontrados entre otros grupos de subespecies, dado el origen genético propuesto para estos grupos. Es así que se plantea la necesidad de definir las clasificaciones sistemáticas para complejos agámicos (Kellog, 1990, 2000).

5.4 CONSIDERACIONES GENERALES

Como se pudo ver en varios de los trabajos comentados en la discusión, y en el nuestro también, la magnitud de las diferencias para ambas características responde de manera clara a la magnitud de las diferencias genéticas entre los materiales genéticos estudiados, hayan sido estas últimas cuantificadas molecularmente o supuestas en base al tipo de material genético. TEF es la característica que, para los trabajos discutidos, varía de manera más acorde a las jerarquías filogenéticas de variación. Las diferencias para estas características se acompañan a las distancias filogenéticas entre los materiales de nuestro trabajo así como en los trabajos discutidos (Bultynck et al. 2004, Sugiyama 2005, Van Esbroeck et al. 2008). Entre los distintos grupos genéticos a nivel pentaploide hubo diferencias significativas para ambas características. Estos grupos genéticos varían entre sí únicamente en el tipo de padre tetraploide. Sin embargo no existieron diferencias significativas para Filocrón y TEF entre los distintos citotipos tetraploides evaluados en nuestro trabajo. Esto sugiere la necesidad de explorar más profundamente la variabilidad genética a ese nivel en el grupo *Dilatata*.

Por otro lado, en los antecedentes sobre este tipo de caracterizaciones también se reconocen las relaciones génicas en la generación de la variabilidad para ambas características. Tanto para filocrón como para TEF las explicaciones referentes a los efectos génicos sobre la variación de las mismas son contradictorios (Morita et al. 2005, Welcker et al. 2007, Van Esbroeck et al. 2008). Pero es coincidente el efecto del incremento en el tamaño genómico y la dosis alélicas sobre el aumento de los valores en ambas características, así como la existencia de diversidad alélica para las mismas (Fiorani et al. 2000, Bultynck et al. 2004, Sugiyama 2005). En el presente trabajo, tanto

para los materiales híbridos artificiales como los naturales, ambas características tendieron a tener valores para Filocrón y TEF similares a los del padre de valor más elevado, y a veces aún mayores a estos, resultados que podrían ser debidos a la heterosis generada en los cruzamientos (Van Esbroeck et al., 2008) tanto naturales como artificiales. Por lo tanto los mecanismos de generación de variabilidad genotípica y las fuentes de variabilidad génica actuarían de la misma manera sobre Filocrón y TEF. Muchas veces en los estudios de variabilidad genética para ambas características en grupos poliploides, se interrelaciona variabilidad genética debida a variaciones en el nivel de ploidía pero también a efectos genéticos, dada la naturaleza alopoliploide de los materiales. Estos efectos no pueden ser discriminados (Fiorani et al. 2000, Bultynck et al. 2004) lo cual sucede en la colección de *P. dilatatum* Poir., estudiada en nuestro trabajo.

En especies cultivadas, para Filocrón y TEF se han realizado prospecciones, donde la variabilidad para las mismas es de gran amplitud Además los resultados de variabilidad que se obtienen para estas características en caracterizaciones de progenies de cruzamientos dirigidos son también de magnitud amplia. En estas especies las estrategias de búsqueda e identificación de variabilidad genética están desarrolladas, dado que existe mucho material genotipeado y los distintos pools de germoplasma se encuentran bien descriptos. Igualmente, cual se puntualizó en la discusión, generalmente la caracterización fenotípica de la diversidad genética se hace bajo una base genética poco o nada descripta. En esos casos se suponen diferencias genéticas entre genotipos en función del tipo de material genético: como ser cultivares híbridos o variedades criollas, etc., en función de los distintos orígenes ecogeográficos, o en función los distintos pools de germoplasma de los cuales provienen.

En cuanto a las evaluaciones de la variabilidad fenotípica para estas características en especies no cultivadas o en proceso de domesticación la realidad es distinta pero las falencias son las mismas. En estas especies se está en etapas muy

tempranas de exploración del germoplasma. Generalmente se identifica y caracteriza la variabilidad genética de la especie en estado salvaje, o en programas de prospección y colectas de variabilidad genética, pero abarcando rangos de diversidad genética sin representatividad con la posiblemente existente, y mas desconocidos que en el caso de especies cultivadas. Por lo tanto ya sea para especies cultivadas o salvajes la lógica general de trabajo en evaluaciones de variabilidad fenotípica son las mismas, se realizan las prospecciones bajo una base supuesta de variabilidad genética debido a que no se realizan trabajos de genotipado con marcadores moleculares para identificar las diferencias genéticas reales entre los materiales o dentro de las accesiones. Pero además no se tiene en cuenta la magnitud y distribución posible de la variabilidad genética. Para esto habría que conocer y tomar en cuenta varios aspectos biológicos de las especies en cuestión, como ser el tipo reproductivo de la especie y por lo tanto los mecanismos de generación de variabilidad genética de la misma, y los patrones de distribución geográfica de esta (Speranza, 2005a).

El trabajo de prospección e identificación de la variabilidad genética con su posterior descripción de la variabilidad fenotípica, para la especie *P. dilatatum* Poir. se ha venido realizando a lo largo del tiempo bajo una lógica científica distinta a la de los trabajos, presentados anteriormente, de identificación de la variabilidad fenotípica para esta característica,. En el caso de estudio que se propone en este trabajo, la variabilidad genética del germoplasma de dicha especie y su distribución ya habían sido estudiadas con marcadores adecuados, antes de realizar las evaluaciones fenotípicas. Para esto se tuvo en cuenta el tipo reproductivo de la especie y los mecanismos de generación y de distribución de su variabilidad genética (Speranza, 2005a). Por lo tanto esto determina que se realice una prospección más eficiente de la variabilidad genética, y posteriormente caracterizaciones fenotípicas sobre materiales con diferencias genéticas conocidas (Speranza, 2005a), corroborando los niveles y distribución de la variabilidad genotípica con la fenotípica. La prueba fidedigna de esto son los trabajos de Rodriguez (2010) y nuestro trabajo.

La utilización de características morfofisiológicas en la caracterización de la variabilidad genética de gramíneas cuando no se tiene suficiente material vegetal para realizar directamente caracterizaciones de valor agronómico, identifican clara y significativamente, información preliminar de la variabilidad genética para flujo de tejidos, características fenológicas, y tipos funcionales. De esta manera este tipo de caracterizaciones fenotípicas es una herramienta de importancia en las caracterizaciones primarias de variabilidad genética en la búsqueda de materiales forrajeros a domesticar. También estas características son de interés para caracterizar e identificar los patrones de respuesta a stress tanto bióticos como abióticos, su variabilidad genética y su relación con distintas características agronómicas.

El presente trabajo sienta las bases de una metodología sustentable al momento de abordar la identificación, prospección y caracterización de variabilidad genética y su distribución geográfica, para especies vegetales apomícticas, aunque de lógica extrapolable a demás especies vegetales.

6 CONCLUSIONES

La caracterización morfofisiológica realizada en el presente trabajo sobre la colección de *P. dilatatum* Poir., a través de la cuantificación de las variables Filocrón y Tasa de Elongación Foliar; es congruente con la magnitud y la distribución de la variabilidad genética existente en la colección.

La variabilidad genética para Filocrón y Tasa de Elongación Foliar estuvo distribuida entre los tres niveles de ploidía en mayor medida que dentro de estos, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Los valores de filocrón fueron mayores a medida que el nivel de ploidía aumentó de 4x a 6x, pero no existió el mismo patrón de variación para TEF en relación a aumentos en el nivel de ploidía.

Para los materiales genéticos de nivel de ploidía pentaploide, las diferencias de Filocrón y TEF entre los materiales genéticos de los distintos grupos genéticos fueron significativas y mayores que para los genotipos dentro de estos. Por lo tanto la variabilidad para estas características estuvo mayormente distribuida entre grupos genéticos que dentro de estos.

7 RESUMEN

Paspalum dilatatum Poir. es una gramínea estival perenne, C4. Presenta el tipo reproductivo apomítico y naturaleza genética poliploide. Su centro de origen es la región comprendida por Uruguay, centro – este de Argentina y sur de Brasil, pero además presenta una amplia distribución mundial. *P. dilatatum* Poir. es reconocida por su aptitud forrajera y su funcionalidad ecológica en los sistemas de producción con base pastoril, pero para su cultivo no se han resuelto ciertas limitantes agronómicas, en parte debido a una ineficiente exploración de su variabilidad genética. La variabilidad existente en esta especie responde a los patrones de variabilidad y de su distribución geográfica, característicos de los complejos apomíticos poliploides. *P. dilatatum* Poir. comprende citotipos alotetraploides sexuales, alopentaploides y alohexaploides apomíticos. Utilizando marcadores moleculares, recientemente se han identificado varios clones dentro del biotipo alopentaploide de la especie, clon “común”, revelando un nivel de variabilidad genética mayor al conocido. Dicha variabilidad puede ser caracterizada utilizando las características morfogenéticas filocrón y tasa de elongación foliar, dada la importancia de estas en la fisiología de gramíneas forrajeras. Las características morfogenéticas son precisos descriptores de la evolución del área foliar y el flujo de tejidos en gramíneas. También son utilizadas para describir el comportamiento de la variabilidad fenotípica para características de interés agronómico en relación a factores de stress. En la Facultad de Agronomía se realizó una caracterización morfogenética en un ensayo a campo de plantas aisladas de la colección de *P. dilatatum* Poir., con 39 genotipos los cuales representan 3 niveles de ploidía y 6 grupos genéticos para el nivel de ploidía pentaploide. A través de la cuantificación de Filocrón y la Tasa de elongación foliar para cada genotipo y mediante un análisis estadístico anidado, se describió la distribución de la variabilidad fenotípica en función del nivel de ploidía y el grupo genético de los genotipos estudiados. La caracterización de la variabilidad en función del nivel de ploidía de los materiales mostró que los valores de filocrón fueron mayores a mayor nivel de ploidía, aunque sin diferencias

significativas. El patrón de variación de los valores de TEF no fue el mismo y tampoco se encontraron diferencias significativas. La caracterización con ambas características, para los genotipos de los 6 grupos genéticos de nivel de ploidía pentaploide mostró que la variabilidad para dichas características es significativamente mayor entre grupos que dentro de estos. Los resultados obtenidos corroboran el patrón de distribución de la variabilidad genética para la especie en función de la variación del nivel de ploidía de los materiales y en relación a las fuentes de sexualidad compatibles a la especie. Estos resultados también validan la metodología de prospección de variabilidad genética en especies apomícticas.

Palabras Clave: *Paspalum dilatatum* Poir.; Variabilidad genética; Apomixis; Poliploidía; Morfogénesis; Filocrón; Tasa de elongación foliar.

8 SUMMARY

Paspalum dilatatum Poir. is a C4, warm-season perennial grass. It presents the apomictic reproductive behavior and a polyploid genetic constitution. The species has as center of origin the region comprised by Uruguay, east-center of Argentina and South of Brazil. Besides it presents a worldwide distribution. This species has recognizable value because of its forage aptitude and its ecological functionality in pastoral based production systems, however its agronomical constraints for cultivation hasn't been solved, in part because of an inefficient exploration of its genetic variability. The variability comprised in the species responds to the patterns of variability, and its distribution, proper of the polyploidy-apomictic complexes. *P. dilatatum* Poir. comprises sexual aloptetraploid and apomictic alopentaploids and alohexaploid cytotypes. Using molecular markers, recently have been identified several clones within de alopentaploid biotype "común" revealing higher levels of variability than any before known. This variability can be characterized using morphogenetic traits such as phyllochron and leaf elongation rate, because of its importance in the physiology of forage grasses. These traits are precise descriptors of the leaf area evolution and tissue flows in grasses. Moreover, they are used to describe the phenotypic variability behavior of agronomical traits in relation to stress factors. A morphogenetic characterization was carried out in the Faculty of Agronomy, UdelaR, in an isolated plants field trail where there are 39 genotypes of the collection of *P. dilatatum* Poir. representing the 3 ploidy levels, and 6 genetic groups for the pentaploid ploidy level. Through the quantification of the phyllochron and leaf appearance rate for each genotype, and through a nested statistical analysis, the distribution of the phenotypic variability in relation to the ploidy level and genotypic group of the genotypes analyzed was described. The characterization of the phenotypic variability in relation to the ploidy level of the genotypes showed that the phyllochron values were higher as the ploidy level increased, though without significant differences. The pattern of variation for the LER was neither the same, nor there were statistical differences. The characterization with both traits for the genotypes of the 6

genetic groups within the pentaploids evidenced that the phenotypic variability is statistically higher among groups than within them. The results obtained confirm the pattern of distribution of the genetic variability in *P.dilatatum* Poir. in relation to the variation of the ploidy level of the materials and of the sources of sexuality compatible with the species: It also certifies a methodology for prospecting genetic variability in apomictic species.

Keywords: *Paspalum dilatatum* Poir.; Genetic Variability; Apomixis; Polyploidy; Morphogenesis; Phyllocron; Leaf elongation rate.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. ACEVEDO, E.; HSIAO, T.C.; HENDERSON, D.W. 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiology*. 48 (5): 631-636.
2. ADAMS, K. L.; WENDEL, J. F. 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 8 (2): 135-141.
3. ALONSO, S.I.; MONTERUBBIANESI, M.G. 2006. Phenotypic variability in leaf length, width and area and their relationships in clones of two subspecies of *Paspalum dilatatum* Poir. during summer and autumn. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 49 (1): 25-33.
4. ANSLOW, R.C. 1966. The rate of appearance of leaves on tillers of the Graminae. *Herbage Abstracts*. 36 (1): 149-155.
5. ARKEBAUER, T.J.; NORMAN, J.M. 1989. A pinpunch apparatus for quantifying the growth rate distribution in monocot leaves. *Agronomy Journal*. 81 (3): 544-547.
6. ARREDONDO, J.T.; SCHNYDER, H. 2003. Components of leaf elongation rate and their relationship to specific leaf area in contrasting grasses. *New Phytologist*. 158 (2): 305-314.
7. ASKER, S.E.; JERLING, L. 1992. Apomixis in plants. Boca Raton, FL, CRC Press. 298 p.
8. ARGENTINA. MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA. INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS. 2010. Catálogo Nacional de

Variedades. (en línea). Buenos Aires. 377 p. Consultado 15 nov. 2010.
Disponible en
http://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_remository&Itemid=102&func=fileinfo&id=780&lang=es. 377 p.

9. ASOCIACIÓN ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL. 2003. Taller El Pasto Miel; una alternativa para las pasturas de la Región Pampeana. Revista Argentina de Producción Animal. 23 (3-4): 127-164.
10. BAHMANI, I.; HAZARD, L.; VARLET-GRANCHER, C.; BETIN, M.; LEMAIRE, G.; MATTHEW, C.; THOM, ER. 2000. Differences in tillering of long- and short-leaved perennial ryegrass genetic lines under full light and shade treatments. Crop Science. 40 (4): 1095-1102.
11. BAKER, C.K.; GALLAGHER, N.; MONTEITH, J.L. 1980. Daylength change and leaf appearance in winter wheat. Plant Cell and Environment. 3 (4): 285-287.
12. BALFOURIER, F.; IMBERT, C.; CHARMET, G. 2000. Evidence for phylogeographic structure in *Lolium* species related to the spread of agriculture in Europe. A cpDNA study. Theoretical and Applied Genetics. 101 (1-2): 131-138.
13. BANDINELLI, D.G.; FERREIRA DE QUADROS, F.L.; NUNES GONÇALVES, E.; GOMES DA ROCHA, M. 2003. Morphogenesis evaluation of *Andropogon lateralis* Nees. with different levels of nitrogen in the four seasons of the year. Ciência Rural. 33 (1): 71-76.
14. BARNES, C.; BUGBEE, B. 1991. Morphological responses of wheat to changes in phytochrome photoequilibrium. Plant Physiology. 97 (1): 359-365.

15. BARTHOLOMEW, P.W.; WILLIAMS, R.D. 2006. Effects of exposure to below-freezing temperatures, soil moisture content and nitrogen application on phyllochron in cool-season grasses. *Grass and Forage Science*. 61 (2): 146-153.
16. BASHAW, E.C.; FORBES JR I. 1958a. Chromosome numbers and microsporogenesis in Dallisgrass *Paspalum dilatatum* Poir. *Agronomy Journal*. 50 (8): 441-445.
17. _____.; HOLT, E.C. 1958b. Megasporogenesis, embryo sac development and embryogenesis in Dallisgrass, *Paspalum dilatatum* Poir. *Agronomy Journal*. 50 (12): 753-756.
18. BAZZAZ, F.A.; HARPER, J.L. 1977. Demographic analysis of the growth of *Linum Usitatissimum*. *New Phytologist*. 78 (1): 193-208.
19. BEGG, J.E.; WRIGHT, M.J. 1964. Relative effectiveness of top and basal leaves for the growth of vegetative shoots of reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L). *Crop Science*. 4 (6): 607-609.
20. BEN HAJ-SALAH, H.; TARDIEU, F. 1995. Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. *Plant Physiology*. 109 (3): 861-870.
21. BENNETT, H.W.; BASHAW, E.C. 1966. Interspecific hybridization with *Paspalum* sp. *Crop Science*. 6 (1): 52-54.

22. BENNETT, M.D. 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society of London*. 181 (1063): 109-135.
23. _____. 1987. Variation in genomic form in plants and its ecological implications. *New Phytologist*. 106 (1): 177-200.
24. BERONE, G.D.; LATTANZI, F.A.; COLABELLI, M.; AGNUSDEI, M.G. 2007. A comparative analysis of the temperature response of leaf elongation in *Bromus stamineus* and *Lolium perenne* plants in the field; intrinsic and size-mediated effects. *Annals of Botany*. 100 (4): 813-820.
25. _____.; _____.; AGNUSDEI, M.G.; BERTOLOTTI, N. 2008. Growth of individual tillers and tillering rate of *Lolium perenne* and *Bromus stamineus* subjected to two defoliation frequencies in winter in Argentina. *Grass and Forage Science*. 63 (4): 504-512.
26. BICKNELL, R.A.; KOLTUNOW, AM. 2004. Understanding apomixes; recent advances and remaining conundrums. *The Plant Cell*. 16: 228-245.
27. BIRCH, C.J.; VOS, J.; KINIRY, J.; BOS, H.J.; ELINGS, A. 1998. Phyllochron responds to acclimation to temperature and irradiance in maize. *Field Crops Research*. 59 (3): 187-200.
28. BONHOMME, R. 2000. Bases and limits to using "degree.day" units. *European Journal of Agronomy*. 13 (1): 1-10.
29. BORRÀS-GELONCH, G.; ROMAGOSA, I.; EEUWIJK, F.V.; SLAFER, G.A. 2009. Genetic variability in duration of pre-heading phases and relationships

with leaf appearance and tillering dynamics in a barley population. *Field Crops Research*. 113 (2): 95-104.

30. _____.; SLAFER, G.A.; CASAS, A.M.; VAN EEUWIJK, F.; ROMAGOSA, I. 2010. Genetic control of pre-heading phases and other traits related to development in a double-haploid barley (*Hordeum vulgare* L.) population. *Field Crops Research*. 119 (1): 36-47.
31. BOS, H.J.; NEUTEBOOM, J.H. 1998. Growth of individual leaves of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by temperature and light intensity. *Annals of Botany*. 81 (1): 141-149.
32. _____.; TIJANI-ENIOLA, H.; STRUIK, P.C. 2000. Morphological analysis of leaf growth of maize; responses to temperature and light intensity. *Netherland Journal of Agricultural Science*. 48 (2): 181-198.
33. BOSSI, J.; FERRANDO, L. 2001. Carta Geológica del Uruguay a escala 1/500.000; versión digital 2.0. Montevideo, Facultad de Agronomía. 1 disco compacto.
34. BRETAGNOLLE, F.; THOMPSON, J.D. 1995. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. *New Phytologist*. 129 (1): 1-22.
35. _____,_____.1996. An experimental study of ecological differences in winter growth between sympatric diploid and autotetraploid *Dactylis glomerata*. *Journal of Ecology*. 84 (3): 343-351.

36. BRISKE, D.D. 1991. Developmental morphology and physiology of grasses. *In*: Heitschmidt, R.K.; Stuth, J.W. eds. Grazing management; an ecological perspective. Portland, Oregon, USA, Timber Press. pp. 85-108.
37. _____.; DERNER, J.D. 1998. Clonal biology of caespitose grasses. *In*: Cheplick, G.P. ed. Population biology of grasses. Cambridge, UK, Cambridge University Press. pp. 106-135.
38. BULTYNCK, L.; FIORANI, F.; VAN VOLKENBURGH, E.; LAMBERS, H. 2003. Epidermal cell division and cell elongation in two *Aegilops* species with contrasting leaf elongation rates. *Functional Plant Biology*. 30 (4): 425-432.
39. _____.; TER STEEGE, M.W.; SCHORTEMeyer, M.; POOT, P.; LAMBERS, H. 2004. From individual leaf elongation to whole shoot leaf area expansion; a comparison of three *Aegilops* and two *Triticum* species. *Annals of Botany*. 94 (1): 99-108.
40. BURSON, B.L.; VOIGHT, P.W.; EVERS, G.W. 1991. Cytology, reproductive behavior, and forage potential of hexaploid dallisgrass biotypes. *Crop Science*. 31 (3): 636-641.
41. _____.; VENUTO, B.C.; HUSSEY, M.A. 2009. Registration of 'Sabine' Dallisgrass. *Journal of Plant Registrations*. 3 (2): 132-137.
42. BYRNE, M.C.; NELSON, C.J.; RANDALL, D.D. 1981. Ploidy effects on anatomy and gas exchange of tall fescue leaves. *Plant Physiology*. 68 (4): 891-893.

43. CAMPBELL, B.D. 1999. Climate profiles of temperate C3 and subtropical C4 species in New Zealand pastures. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 42 (3): 223-233.
44. CAO, W.; MOSS, D.N. 1989a. Daylength effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. *Crop Science*. 29 (4): 1021-1025.
45. _____; _____. 1989b. Temperature effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. *Crop Science*. 29 (4): 1018-1021.
46. CARÁMBULA, M. 2002. Potenciales y alternativas para producir forraje. Montevideo, Hemisferio Sur. t. 1, 357 p.
47. CASAL, J.J.; DEREGIBUS, V.A.; SÁNCHEZ, R.A. 1985. Variations in tiller dynamics and morphology in *Lolium multiflorum* Lam. vegetative and reproductive plants as affected by differences in red/far-red irradiation. *Annals of Botany*. 56 (4): 553-559.
48. _____; SÁNCHEZ, R.A.; DEREGIBUS, V.A. 1987. The effect of light quality on shoot extension growth in three species of grasses. *Annals of Botany*. 59 (1): 1-7.
49. CAVALLINI, A.; NATALI, L.; CIONINI, G.; GENNAI, D. 1993. Nuclear DNA variability within *Pisum sativum* (Leguminosae): nucleotypic effects on plant growth. *Heredity*. 70 (6): 561-565.
50. CICARDINI, E.E.; IRAZOQUI, J.M.; ORBEA, J.R. 1982. Production and forage quality curves of eight ecotypes of dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.). *Revista Argentina de Producción Animal*. 4 (4): 411-421.

51. CLARK, L.; FISHER, J. 1986. Vegetative morphology of grasses; shoots and roots. In: Soderstrom, T.R.; Hilu, K.W.; Campbell, C.S.; Barkworth, M.E. eds. Grass systematics and evolution. Washington, D.C., Smithsonian. pp. 37-47.
52. CLERGET, B.; DINGKUHN, M.; GOZE, E.; RATTUNDE, H.F.W.; NEY, B. 2008. Variability of phyllochron, plastochron and rate of increase in height in photoperiod-sensitive *Sorghum* varieties. *Annals of Botany*. 101 (4): 579-594.
53. COLABELLI, M.; AGNUSDEI, M.; MAZZANTI, A.; LABREVEUX, M. 1998. El proceso de crecimiento y desarrollo de gramíneas forrajeras como base para el manejo de la defoliación. Buenos Aires, Argentina, INTA Balcarce. 21 p. (Boletín Técnico no.148).
54. COLOMB, B.; KINIRY, J.R.; DEBAEKE, P. 2000. Effect of soil phosphorus on leaf development and senescence dynamics of field-grown maize. *Agronomy Journal*. 92 (3): 428-435.
55. COLL, J. 1991. Producción de semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. Uruguay Montevideo, INIA. 20 p. (Serie Técnica no. 4)
56. COMAI, L. 205. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*. 6 (11): 836-846.
57. COOPER, J.P. 1970. Potential production and energy conversion in temperate and tropical grasses. *Herbage Abstracts*. 40 (1): 1-15.

58. COUNCE, P.A.; KLEISING, T.C.; MITCHELL, A.J. 2000. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. *Crop Science*. 40 (2): 436-443.
59. COUSO, L.L.; GATTI, M.L.; CORNAGLIA, P.S.; SCHRAUF, G.E.; FERNÁNDEZ, R.J. 2010. Are more productive varieties of *Paspalum dilatatum* Poir. less tolerant to drought? *Grass and Forage Science*. 65 (3): 296-303.
60. CRAUFURD, P.Q.; FLOWER, D.J.; PEACOCK, J.M. 1993. Effect of heat and drought stress on sorghum (*Sorghum bicolor*). I. Panicle development and leaf appearance. *Experimental Agriculture*. 29 (1): 61-76.
61. _____; QI, A.; ELLIS, R.H.; SUMMERFIELD, R.J.; ROBERTS, E.H.; MAHALAKSHMI, V. 1998. Effect of temperature on time to panicle initiation and leaf appearance in *Sorghum*. *Crop Science*. 38 (4): 942-947.
62. CHEN, Z.J. 2007. Genetic and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. *Annual Review of Plant Biology*. 58: 377-406.
63. DA COSTA, D.I.; SCHEFFER-BASSO, S.M. 2003. Caracterização morfofisiológica e agrônômica de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro e *Festuca arundinacea* Schreb. 1. Desenvolvimento morfológico. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 32 (5): 1054-1060.
64. DA SILVA PENA, K.; DO NASCIMENTO JÚNIOR, D.; DA SILVA, S.C.; EUCLIDES, P.B.; ZANINE, A. DE M. 2009. Características morfogênicas, estruturais e acúmulo de forragem do capim tanzânia submetido a duas

- alturas e três intervalos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia. 38 (11): 2127-2136.
65. DAURELIO, L.D.; ESPINOZA, F.; QUARÍN, C.L.; PESSINO, S.C. 2004. Genetic diversity in sexual diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry. Plant Systematics and Evolution. 244 (3): 189-199.
 66. DAVIDSON, J.L.; MILTHORPE, F.L. 1966. Leaf growth in *Dactylis glomerata* following defoliation. Annals of Botany. 30 (2): 173-184.
 67. DAVIES, A. 1993. Tissue turnover in the sward. In: Davies, A.; Baker, R.D.; Grant, S.A. eds. Sward measurement handbook. London, British Grassland Society. pp. 183-216.
 68. DEL PUERTO, O. 1969. Hierbas del Uruguay. Montevideo, Nuestra Tierra. s.p. (Nuestra Tierra no. 18).
 69. DEAN, C.; LEECH, R.M. 1982. Genome expression during normal leaf development. Plant Physiology. 69 (4): 904-910.
 70. DEWET, J.M.J. 1980. Origins of polyploids. In: Lewis, W. H. ed. Polyploidy; biological relevance, New York, Plenum. pp. 3-15.
 71. DOFING, S.M. 1999. Inheritance of Phyllochron in barley. Crop Science. 39 (2): 334-337.
 72. DONAGHY, D.J.; VARLET-GRANCHER, C.; LEMAIRE, G.; GASTAL, F.; MOULIA, B. 1991. Carbon partitioning in forage crops. Acta Biotheoretica. 39 (3-4): 213-224.

73. _____.; ONILLON, B.; SCHNYDER, H.; RADEMACHER, I. 1995. Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany*. 46 (290): 1147-1155.
74. _____.; FULKERSON, W.J. 1998. Priority for allocation of water-soluble carbohydrate reserves during regrowth of *Lolium perenne*. *Grass and Forage Science*. 53 (3): 211-218.
75. _____.; SCHÄUFELE, R.; GASTAL, F. 1999. Grass leaf elongation rate as a function of developmental stage and temperature; morphological analysis and modelling. *Annals of Botany*. 83 (5): 577-588.
76. DURU, M.; DUCROCQ, H. 2000a. Growth and senescence of the successive leaves on a cocksfoot tiller. Effect of nitrogen and cutting regime. *Annals of Botany*. 85 (5): 645-653.
77. _____.; _____. 2000b. Growth and senescence of the successive grass leaves on a tiller. Ontogenic development and effect of temperature. *Annals of Botany*. 85 (5): 635-643.
78. ELLIS, R.H.; QI, A.; SUMMERFIELD, R.J.; ROBERTS, E.H. 1993. Rates of leaf appearance and panicle development in rice (*Oryza sativa* L.); a comparison at three temperatures. *Agricultural and Forest Meteorology*. 66 (3-4): 129-138.
79. ELLSTRAND, N.C.; ROOSE, M.L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*. 74: 123-131.

80. EVANS, M.M.S.; BARTON, K. 1997. Genetics of angiosperm shoot apical meristem development. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48 (): 673-701.
81. EVANS, M.W.; GROVER, F.O. 1940. Developmental morphology of the growing point of the shoot and the inflorescence in grasses. *Journal of Agricultural Research*. 61 (7): 481-520.
82. FIORANI, F.; BEEMSTER, G.T.S.; BULTYNCK, L.; LAMBERS, H. 2000. Can meristematic activity determine variation in leaf size and elongation rate among four poa species? A kinematic study. *Plant Physiology*. 124 (2): 845-855.
83. FRANK, A.B.; HOFMANN, L. 1989. Relationship among grazing managements, growing degree days, and morphological development for native grasses on the northern great plains. *Journal of Range Management*. 42 (3): 199-202.
84. _____; BAUER, A. 1995. Phyllochron differences in wheat, barley and forage grasses. *Crop Science*. 35 (1): 19-23.
85. FRENCH, J. 1977. Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany*. 48 (310): 985-999.
86. GALLAGHER, J.N.; BISCOE, P.V. 1979. Field studies of cereal leaf growth III. barley leaf extension in relation to temperature, irradiance and water potential. *Journal of Experimental Botany*. 30 (117): 645-655.

87. GARCIA, J. A. 1995. Gramilla y praderas. Montevideo, INIA. 14 p. (Serie Técnica no.67)
88. GARCÍA, M.V.; ARTURI, M.J.; ANSÍN, O.E. 2002. Variabilidad fenotípica y genética en poblaciones de pasto miel (*Paspalum dilatatum* Poir.). Agricultura Técnica. 62 (2): 237-244.
89. GASTAL, F.; BÉLANGER, G.; LEMAIRE, G. 1992. A model of leaf extension rate of tall fescue in response to nitrogen and temperature. Annals of Botany. 70 (5): 437-442.
90. _____; NELSON, C.J. 1994. Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. Plant Physiology. 105 (1): 191-197.
91. GAUTIER, H.; VARLET-GRANCHER, C. 1996. Regulation of the leaf growth of grass by blue light. Physiologia Plantarum. 98 (2): 424-430.
92. _____; VARLET-GRANCHER, C.; HAZARD, L. 1999. Tillering responses to the light environment and to defoliation in populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) selected for contrasting leaf length. Annals of Botany. 83 (4): 423-429.
93. GHESQUIÈRE, M.; HAZARD, L.; BETIN, M. 1994. Breeding for management adaptation in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). II. Genetic variability and heritability of leaf morphogenesis components. Agronomie. 14 (4): 267-272.
94. GILLET, M.; LEMAIRE, G.; GOSSE, G. 1984. Essai d'élaboration d'un schéma global de croissance des graminées fourragères. Agronomie. 4 (1): 75-82.

95. GOMIDE, C.A.; GOMIDE, J.A.; ALEXANDRINO, E. 2003. Índices morfogênicos e de crescimento durante o estabelecimento e a rebrotação do capim-mombaça (*Panicum maximum* Jacq.). Revista Brasileira de Zootecnia. 32 (4): 795-803.
96. GONZÁLEZ, S.; XAVIER, A. 2000. Definición del número de hojas por tallo y del número de granos por espiga en cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.). Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 69 p.
97. GRAMIG, G.G.; STOLTENBERG, D.E. 2007. Leaf appearance base temperature and phyllochron for common grass and broadleaf weed species. Weed Technology. 21 (1): 249-254.
98. GRANT, V. 1981. Plant speciation. New York, Columbia University Press. 563 p.
99. GRIME, J. P.; MOWFORTH, M. A. 1982. Variation in genome size-an ecological interpretation. Nature. 299 (5879): 151-153.
100. GUNTER, L.E.; TUSKAN, G.A.; WULLSCHLEGER, S.D. 1996. Diversity among populations of switchgrass based on RAPD markers. Crop Science. 36 (4): 1017-1022.
101. GUO, M.; DAVIS, D.; BIRCHLER, J.A. 1996. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. Genetics. 142 (2): 1349-1355.
102. GUSTAFSON, D.J.; GIBSON, D.J.; NICKRENT, D.L. 1999. Random amplified polymorphic DNA variation among remnant big bluestem (*Andropogon gerardii* Vitman) populations from Arkansas Grand Prairie. Molecular Ecology. 8 (10): 1693-1701.

103. HANCOCK, J.F. 2004. Polyploidy and gene duplication. In: Hancock, J.F. ed. Plant evolution and the origin of crop species. Wallingford, CABI Publishing. pp. 77-99.
104. _____. 2005. Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant evolution. *Annals of Botany*. 96 (6): 953-963.
105. HARLAN, J.R.; DE WET, J.M.J. 1963. The compilospecies concept. *Evolution*. 17 (4): 497-501.
106. HAUN, J.R. 1973. Visual quantification of wheat development. *Agronomy Journal*. 65 (1): 116-119.
107. HAY, R.K.M.; PORTER, J.R. 2006. The physiology of crop yield. 2nd ed. Oxford, UK, Blackwell. 314 p.
108. HAZARD, L.; GHESQUIÈRE, M.; BETIN, M. 1994. Breeding for management adaptation in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L). I. Assessment of yield under contrasting cutting frequencies and relationships with leaf morphogenesis components. *Agronomie*. 14 (4): 259-266.
109. _____. _____. 1997. Productivity under contrasting cutting regimes of perennial ryegrass selected for short and long leaves. *Euphytica*. 95 (3): 295-299.
110. HODGSON, J.; BIRCHAM, J.S.; GRANT, S.A.; KING, J. 1981. The influence of cutting and grazing management on herbage growth and utilization. In: Wright, C.E. ed. Plant physiology and herbage production. Hurley, British Grassland Society. pp. 51-62 (Occasional Symposium no. 13).

111. _____. 1990. Grazing management; science into practice. New York, Longman Scientific and Technical. 203 p.
112. HÖRANDL, E. 2004. Comparative analysis of genetic divergence among sexual ancestors of apomictic complexes using isozyme data. *International Journal of Plant Science*. 165 (4): 615-622.
113. _____. 2006. The complex causality of geographical parthenogenesis. *New Phytologist*. 171 (3): 525-538.
114. HORST, G.L.; NELSON, C.J.; ASAY, K.H. 1978. Relationship of leaf elongation to forage yield of tall fescue genotypes. *Crop Science*. 18 (5): 715-719.
115. HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. 2008. Spatial and temporal quantitative analysis of cell division and elongation rate in growing wheat leaves under saline conditions. *Journal of Integrative Plant Biology*. 50 (1): 76-83.
116. HUANG, S.; SU, X.; HASELKORN, R.; GORNIKI, P. 2003. Evolution of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) based on sequences of the nuclear gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase. *Plant Science*. 164 (1): 43-49.
117. INSAUSTI, P.; GRIMOLDI, A.A.; CHANETON, E.J.; VALLESATI, V. 2001. Flooding induces a suite of adaptive plastic responses in the grass *Paspalum dilatatum* Poir. *New Phytologist*. 152 (2): 291-299.
118. INZÉ, D.; DE VEYLER, L. 2006. Cell cycle regulation in plant development. *Annual Reviews of Genetics*. 40 (): 77-105.
119. ITOH, Y.; SANO, Y. 2006. Phyllochron dynamics under controlled environments in rice. *Euphytica*. 150 (1-2): 87-95.

120. JAMIESON, P.; BROOKING, I.; ZYSKOWSKI, R.; MUNRO, C. 2008. The vexatious problem of the variation of the phyllochron in wheat. *Field Crops Research*. 108 (2): 163-168.
121. JOHNSTON, W.H. 1996. C4 grasses in temperate areas. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 39 (4): 527-540.
122. JOVANOVIĆ, Z.; DJAKOVIĆ, T.; STIKIĆ, R.; PROKIĆ, L.J.; SUKALOVIĆ, V.H.T. 2004. Effect of N deficiency on leaf growth and cell wall peroxidase activity in contrasting maize genotypes. *Plant and Soil*. 265 (1-2): 211-223.
123. JUSKIW, P.; JAME, Y.; KRYZANOWSKI, L. 2001. Phenological development of spring barley in a short season growing area. *Agronomy Journal*. 93 (2): 370-379.
124. KAVANOVA, M.; GRIMOLDI, A.A.; LATTANZI, F.A.; SCHNYDER, H. 2006. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics. *Plant Cell and Environment*. 23 (4): 511-520.
125. KEATINGE, J.D.H.; GARRETT, M.K.; STEWART, R.H. 1980. Response of perennial and Italian ryegrass cultivars to temperature and soil water potential. *Journal of Agricultural Science*. 94 (1): 171-176.
126. KELLOGG, E.A. 1990. Variation and species limits in agamospermous grasses. *Systematic Botany*. 15 (1): 112-123.
127. _____. 2000. The grasses; a case study in macroevolution. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*. 31: 217-238.

128. KEMP, D.R. 1980. The location and size of the extension zone of emerging wheat leaves. *New Phytologist*. 84 (4): 729-737.
129. KEYES, G.J.; PAOLILLO, D.J.; SORRELLS, M.E. 1989. The effects of dwarfing genes *Rht1* and *Rht2* on cellular dimensions and rate of leaf elongation in wheat. *Annals of Botany*. 64 (6): 683-690.
130. KHRAMTSOVA, E.V.; KISELEVA, I.S.; LYUBOMUDROVA, E.A.; MALKOVA, N.V. 2003. Optimization of the leaf mesophyll structure in allopolyploid and diploid wheat species. *Russian Journal of Plant Physiology*. 50 (1): 19-27.
131. KLEPPER, B.; RICKMAN, R.W.; PETERSON, C.M. 1982. Quantitative characterization of vegetative development in small cereal grains. *Agronomy Journal*. 74 (5): 789-792.
132. KÖLLIKER, R.; STADELMANN, F.J.; REIDY, B.; NÖSBERGER, J. 1999. Genetic variability of forage grass cultivars; a comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L., and *Dactylis glomerata* L. *Euphytica*. 106 (3): 261-270.
133. KOLTUNOW, A.M.; GROSSNIKLAUS, U. 2003. Apomixis; a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology*. 54 (): 547-574.
134. LAFARGE, T.; DE RAÏSSAC, M.; TARDIEU, F. 1998. Elongation rate of sorghum leaves has a common response to meristem temperature in diverse african and european environmental conditions. *Field Crops Research*. 58 (1): 69-79.

135. LAVRES JR.; FERRAGINE, M DEL C.; GERDES, L.; RAPOSO, R.W.C.; DA COSTA, M.N.X.; MONTEIRO, F.A. 2004. Yield components and morphogenesis of aruana grass in response to nitrogen supply. *Scientia Agrícola*. 61 (6): 632-639.
136. LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In: Hodgson, J.; Ilius, A.W. eds. *The ecology management of grazing systems* Wallington, UK, CAB International. pp. 3-36
137. _____.; AGNUSDEI, M. 2000. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilisation. In: Lemaire, G.; Hodgson, J.; Moraes, A.; Carvalho, P.C.F.; Nabinger, C. eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. Wallington, UK, CAB International. pp. 265-287.
138. _____.; DA SILVA, S.C.; AGNUSDEI, M.; WADE, M.; HODGSON, J. 2009. Interactions between leaf lifespan and defoliation frequency in temperate and tropical pastures; a review. *Grass and Forage Science*. 64 (4): 341-353.
139. LEVIN, D.A. 1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *American Naturalist*. 122 (1): 1-25.
140. LEVY, A.A.; FELDMAN, M. 2002. The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant Physiology*. 130 (4): 1587-1593.
141. LONGNECKER, N.; ROBSON, A. 1994. Leaf emergence of spring wheat receiving varying nitrogen supply at different stages of development. *Annals of Botany*. 74 (1): 1-7.

142. LORETI, J.; OESTERHELD, M.; SALA, O. 2001. Lack of intraspecific variation in resistance to defoliation in a grass that evolved under light grazing pressure. *Plant Ecology*. 157 (2): 195-202.
143. MACADAM, J.W.; VOLENEC J.J.; NELSON, C.J. 1989. Effects of nitrogen on mesophyll cell division and epidermal cell elongation in tall fescue leaf blades. *Plant Physiology*. 89 (2): 549-556.
144. MCMASTER, G.S.; WILHELM, W.; MORGAN, J.A. 1992. Simulating winter wheat shoot apex phenology. *Journal of Agricultural Science*. 119 (1): 1-12.
145. _____.; _____. 1997. Growing degree-days; one equation, two interpretations. *Agricultural and Forest Meteorology*. 87 (4): 291-300.
146. _____.; _____.; PALIC, D.B.; PORTER, J.R.; JAMIESON, P.D. 2003. Spring wheat leaf appearance and temperature; extending the paradigm? *Annals of Botany*. 91 (6): 697-705.
147. _____. 2005. Phytomers, phyllochrons, phenology and temperate cereal development. *Journal of Agricultural Science*. 143 (2-3): 137-150.
148. MACEIRA, N.O.; JACQUARD, P.; LUMARET, R. 1993. Competition between diploid and derivative autotetraploid *Dactylis glomerata* L. from Galicia. Implications for the establishment of novel polyploid populations. *New Phytologist*. 124 (2): 321-328.
149. MADAKADZE, I.; COULMAN, B.E.; STEWART, K.; PETERSON, P.; SAMSON, R.; SMITH, D.L. 1998. Phenology and tiller characteristics of big

- bluestem and switchgrass cultivars in a short growing season area. *Agronomy Journal*. 90 (4): 489-495.
150. MARTINS, C.E.N.; DE QUADROS, F.L.F.; BANDINELLI, D.G.; SIMÕES, L.F.C.; KLOSS, M.G.; DA ROCHA, M.G. 2005. Morphogenic variables of pearl millet (*Pennisetum americanum*) in two grazing height. *Ciência Rural*. 35 (1): 174-180.
151. MASLE, J.; DOUSSINAULT, G.; FARQUHAR, G.D.; SUN, B. 1989. Foliar stage in wheat correlates better to photothermal time than to thermal time. *Plant Cell and Environment*. 12 (3): 235-247.
152. MASTERSON, J. 1994. Stomatal size in fossil plants; evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science*. 264 (): 421-424.
153. MEIJER, M.; MURRAY, J.A.H. 2001. Cell cycle controls and the development of plant form. *Current Opinion in Plant Biology*. 4 (1): 44-49.
154. MIGLIETTA, F. 1991. Simulation of wheat ontogenesis. I. Appearance of main stem leaves in the field. *Climate Research*. 1 (2): 145-150.
155. MIZ, R.B.; SOUZA-CHIES, T.T. 2006. Genetic relationships and variation among biotypes of dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) and related species using random amplified polymorphic DNA markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53 (3): 541-552.
156. MOODY, M.E.; MUELLER, L.D.; SOLTIS, D.E. 1993. Genetic variation and random drift in autotetraploid populations. *Genetics*. 134 (3): 649-657.

157. MOORE, K.J.; MOSER, L.E.; VOGEL, K.P.; WALLER, S.S.; JOHNSON, B.E.; PEDERSEN, J.F. 1991. Describing and quantifying growth stages of perennial forage grasses. *Agronomy Journal*. 83 (6): 1073-1077.
158. MORITA, M.; TANG, D.Q.; MIYAMOTO, N.; GOTO, Y.; UKAI, Y.; NEMOTO, K. 2005. Quantitative trait loci for rice phyllochron in Lemont × IR36 cross. *Plant Production Science*. 8 (2): 199-202.
159. MUNNS, R.; JAMES, R.A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*. 253 (1): 201-218.
160. NELSON, C.J. 2000. Shoot morphological plasticity of grasses: leaf growth vs. tillering. *In*: Lemaire, G.; Hodgson, J.; Moraes, A.; de Cavalho, P.C.; Nabinger, C. eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. Wallingford, UK, CABI Publishing. pp. 101–126.
161. NEUTEBOOM, J.H.; LATINGA, E.A. 1989. Tillering potential and relationship between leaf and tiller production in perennial ryegrass. *Annals of Botany*. 63 (2): 265-270.
162. NOGLER, G.A. 1984. Gametophytic apomixis. *In*: Johri, B.M. ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin, Springer-Verlag. pp. 475–518.
163. NUCIARI, M.C.; ALONSO, S.I. 2004. Porcentaje de tejidos foliares en clones de *Paspalum dilatatum* Poir. en el estado reproductivo. *Revista Argentina de Producción Animal*. 24 (1): 196-197.
164. OSBORN, T.C.; PIRES, J.C.; BIRCHLER, J.A.; AUGER, D.L.; JEFFERY CHEN, Z.; LEE, H.; COMAI, L.; MADLUNG, A.; DOERGE, R.W.;

- COLOT, V.; MARTIENSSEN, R.A. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in Genetics*. 19 (3): 141-147.
165. _____. 2004. The contribution of polyploidy to variation in Brassica species. *Physiologia Plantarum*. 121 (4): 531-536.
166. OZIAS-AKINS, P.; AKIYAMA, Y.; HANNA, W.W. 2003. Molecular characterization of the genomic region linked with apomixis in *Pennisetum/Cenchrus*. *Functional and Integrative Genomics*. 3 (3): 94-104.
167. PADILLA, J.M.; OTEGUI, M.E. 2005. Co-ordination between leaf initiation and leaf appearance in field-grown maize (*Zea mays*); genotypic differences in response of rates to temperature. *Annals of Botany*. 96 (6): 997-1007.
168. PAOLILLO, D.J.; SORRELLS, M.E. 1992. The spatial distribution of growth in the extension zone of seedling wheat leaves. *Annals of Botany*. 70 (5): 461-470.
169. PARENT, B.; SUARD, B.; SERRAJ, R.; TARDIEU, F. 2010. Rice leaf growth and water potential are resilient to evaporative demand and soil water deficit once the effects of root system are neutralized. *Plant Cell and Environment*. 33 (8): 1256-1267.
170. PATERSON, A.H.; BOWERS, J.E.; CHAPMAN, B.A. 2004. Ancient polyploidization predating divergence of the cereals, and its consequences for comparative genomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101 (26): 9903-9908.

171. PEACOCK, J.M. 1975a. Temperature and leaf growth in *Lolium perenne*. I. The thermal microclimate; its measurement and relation to crop growth. *Journal of Applied Ecology*. 12 (1): 99-114.
172. _____. 1975b. Temperature and leaf growth in *Lolium perenne*. II. The site of temperature perception. *Journal of Applied Ecology*. 12 (1): 115-123.
173. _____. 1976. Temperature and leaf growth in four grasses species. *Journal of Applied Ecology*. 13 (1): 225-233.
174. PEARSON, C. J.; ISON, R. L. 2005. *Agronomy of grassland systems*. New York, Cambridge University Press. 222 p
175. PERRETA, M.G.; VEGETTI, A.C. 2005. Patrones estructurales en las plantas vasculares: una revision. *Gayana Botanica*. 62 (1): 9-19.
176. PETER-SCHMID, M.K.I.; BOLLER, B.; KÖLLIKER, R. 2008. Habitat and management affect genetic structure of *Festuca pratensis* but not *Lolium multiflorum* ecotype populations. *Plant Breeding*. 127 (5): 510-517.
177. PETIT, C.; LESBROS, P.; GE, X.; THOMPSON, J.D. 1997. Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity*. 79 (1): 31-40.
178. PETRÓCZI, I.M.; MATUZ, J. 2002. Seasonal study of tillering and phyllochron of winter wheat in field trials. *Acta Biologica Szegediensis*. 46 (3-4): 209-210.
179. PIANO, E.; PECETTI, L.; ANNICCHIARICO, P.; CARRONI, A.M.; FORNASIER, F.; ROMANI, M. 2004. Combining drought tolerance and

responsiveness to summer moisture availability in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) germplasm grown in Mediterranean environments. Australian Journal of Agricultural Research. 55 (12): 1197-1204.

180. PINTO, J.C.; GOMIDE, J.A.; MAESTRI, M.; LOPES, N.F. 1994. Crescimento de folhas de gramíneas forrageiras tropicais, cultivadas em vasos, com duas doses de nitrogênio. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 23 (3): 327-332.
181. PINTO, L.F. DE M.; DA SILVA, S.C.; SBRISSIA, A.F.; DE CARVALHO, C.A.B.; CARNEVALLI, R.A.; FAGUNDES, J.L.; PEDREIRA, C.G.S. 2001. Dinâmica do acúmulo de matéria seca em pastagens de Tifton 85 sob pastejo. Scientia Agricola. 58 (3): 439-447.
182. PIZARRO, E. 2002. Potencial forrajero del género *Paspalum*. Pasturas Tropicales. 22 (1): 38-46.
183. PLÉNET, D.; ETCHEBEST, S.; MOLLIER, A.; PELLERIN, S. 2000. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency I. Leaf growth. Plant and Soil. 223 (1-2): 117-130.
184. POELHMAN, J.M.; SLEPER, D.A. 2006. Breeding field crops 5th ed. Ames, IA, Blackwell. 424 p.
185. PRYSTUPA, P.; SLAFER, G.A.; SAVIN, R. 2003. Leaf appearance, tillering and their coordination in response to NxP fertilization in barley. Plant and Soil. 255 (2): 587-594.

186. QUINOS, P.M.; INSAUSTI, P.; SORIANO, A. 1998. Facilitative effect of *Lotus tenuis* on *Paspalum dilatatum* Poir. in a lowland grassland of Argentina. *Oecologia*. 114 (3): 427-431.
187. REBETZKE, G.J.; RICHARDS, R.A. 1999. Genetic improvement of early vigour in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*. 50 (3): 291-302.
188. REYMOND, M.; MULLER, B.; LEONARDI, A.; CHARCOSSET, A.; TARDIEU, F. 2003. Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyze the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Physiology*. 131 (2): 664-675.
189. _____.; _____.; TARDIEU, F. 2004. Dealing with the genotype*environment interaction via a modelling approach; a comparison of QTLs of maize leaf length or width with QTLs of model parameters. *Journal of Experimental Botany*. 55 (407): 2461-2472.
190. RICHARDS, A. J.; 1990. The implications of reproductive versatility for the structure of grass populations. In: Chapman, G. P. ed. *Reproductive versatility in the grasses*. Cambridge, Cambridge University Press. pp. 131-153.
191. _____. 2003. Apomixis in flowering plants; an overview. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London*. 358 (1434): 1085-1093.
192. RÍOS, A.; GIMÉNEZ, A. 1991 Maleza perenne más importante en Uruguay; Situación de la gramilla *Cynodon dactylon* L. (Pers.). In: Restaino, E.;

Indarte, E. eds. Pasturas y producción animal en áreas de ganadería intensiva. Montevideo, Uruguay, INIA. pp. 10-17 (Serie Técnica no. 15)

193. ROBSON, M.J. 1967. A comparison of British and north African varieties of tall fescue (*Festuca Arundinacea*). I. Leaf growth during winter and the effects on it of temperature and daylength. *Journal of Applied Ecology*. 4 (2): 475-484.
194. _____. 1973. The growth and development of simulated swards of perennial ryegrass. I. Leaf growth and dry weight change as related to ceiling yield of a seedling sward. *Annals of Botany*. 37: 487-500.
195. RODRÍGUEZ, O. 2010. Caracterización morfológica de clones recombinantes de *Paspalum dilatatum* (Poir). Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 81p.
196. ROSENGURTT, B. 1943. Estudios sobre praderas naturales del Uruguay. 3ª. contribución. Montevideo, Uruguay, Barreiro y Ramos. 281 p.
197. _____. 1979. Cuadros de comportamiento de las especies de plantas de campos naturales en el Uruguay. Montevideo, División Publicaciones y Ediciones. 86 p.
198. RUA, G.H.; SPERANZA, P.R.; VAIO, M.; ARAKAKI, M. 2010. A phylogenetic analysis of the genus *Paspalum* (Poaceae) based on cpDNA and morphology. *Plant Systematics and Evolution*. 288 (3-4): 227-243.

199. SAAB, I.N.; SHARP, R.E. 1989. Non-hydraulic signals from maize roots in dryinf soil: Inhibition of leaf elongation but not stomatal conductance. *Planta*. 179 (4): 466-474.
200. SALISBURY, F.B.; ROSS, C. 1992. *Plant physiology*. 4th ed. Velmont, CA, Wadsworth. 682 p.
201. SANTIÑAQUE, F. 1979. Estudios sobre la productividad y comportamiento de distintas mezclas forrajeras. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 88 p.
202. SAS INSTITUTE. 2004. Base SAS 9.1 procedures guide, vol. 1–4. Cary, NC. s.p.
203. SATTLER, R.; RUTISHAUSER, R. 1997. The fundamental relevance of morphology and morphogenesis to plant research. *Annals of Botany*. 80 (5): 571-582.
204. SAVIDAN, Y. 2000. Apomixis; genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*. 18 (0): 12-86.
205. SCHIRMER DE MATTOS, J.L.; GOMIDE, J.A. 2005. Effect of water deficit and flooding on the growth of *Brachiaria* species in the field. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34 (3): 755-764.
206. SCHNYDER, H.; NELSON, C.J. 1987. Growth rates and carbohydrate fluxes within the elongation zone of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology*. 85 (2): 548-553.

207. _____.; _____. 1989. Growth rates and assimilates partitioning in the elongation zone of tall fescue leaf blades at high and low irradiance. *Plant Physiology*. 90 (3): 1201-1206.
208. _____.; SEO, S.; RADEMACHER, I.F.; KÜHBAUCH, W. 1990. Spatial distribution of growth rates and of epidermal cell lengths in the elongation zone during leaf development in *Lolium perenne* L. *Planta*. 181 (4): 423-431.
209. SCHRANZ, M.E.; QUIJADA, P.; SUNG, S.; LUKENS, L.; AMASINO, R.; OSBORN, T. 2002. Characterization and effects of the replicated flowering time gene FLC in *Brassica rapa*. *Genetics*. 162 (3): 1457-1468.
210. SCHRAUF, G. 2003. Selección, hibridación interespecífica e ingeniería genética en el mejoramiento de Pasto Miel. *Revista Argentina de Producción Animal*. 23 (4): 153-159.
211. SKERMAN, P.J.; RIVEROS, F. 1992. Gramíneas tropicales. Roma, Italia, FAO. 849 p. (FAO. Producción y protección vegetal no. 3)
212. SKINNER, R.H.; NELSON, C.J. 1992. Estimation of potential tiller production and site usage during tall fescue canopy development. *Annals of Botany*. 70 (6): 493-499.
213. _____.; SIMMONS, S.R. 1993. Modulation of leaf elongation, tiller appearance and tiller senescence in spring barley by far-red light. *Plant Cell and Environment*. 16 (5): 555-562.
214. _____.; _____. 1994a. Effect of tiller trimming on phyllochron and tillering regulation during tall fescue development. *Crop Science*. 34 (5): 1267-1273.

215. _____.; _____.1994b. Epidermal cell division and the coordination of leaf and tiller development. *Annals of Botany*. 74 (1): 9-15.
216. _____.; NELSON, C.J. 1994c. Role of leaf appearance rate and the coleoptile tiller in regulating tiller production. *Crop Science*. 34 (1): 71-75.
217. _____.; _____. 1995. Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. *Crop Science*. 35 (1): 4-10.
218. SLAFER, G.A.; RAWSON, H.M. 1994. Does temperature affect final numbers of primordia in wheat? *Field Crops Research*. 39 (2-3): 111-117.
219. SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. 2000. Contributions of plant molecular systematics to studies of molecular evolution. *Plant Molecular Biology*. 42 (1): 45-75.
220. _____.; _____.; BENNETT, M.D.; LEITCH, I.J. 2003. Evolution of genome size in the Angiosperms. *American Journal of Botany*. 90 (11): 1596-1603.
221. SOUZA-CHIES, T.T.; ESSI, L.; RUA, G.H.; VALLS, J.F.M.; MIZ, R.B. 2006. A preliminary approach to the phylogeny of the genus *Paspalum* (Poaceae). *Genetica*. 126 (1): 15-32.
222. SPERANZA, P. 2005a. Los desafíos de la exploración de los recursos genéticos en plantas apomíticas; lecciones del caso de *Paspalum dilatatum* Poir. *Agrociencia*. 9 (1): 73-76.
223. _____. 2005b. Evolutionary patterns in the Dilatata group (*Paspalum*, Poaceae): a polyploid/agamic complex. Tesis PhD. Gainesville, USA. University of Florida. 107 p.

224. _____.; _____.; MALOSETTI, M. 2007. Nuclear and cytoplasmic microsatellite markers for the species of the Dilatata group of *Paspalum* (Poaceae). *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 5 (1): 14-26.
225. STODDART, J.L.; THOMAS, H.; LLOYD, E.J.; POLLOCK, C.J. 1986. The use of a temperature-profiled position transducer for the study of low-temperature growth in Graminae. *Planta*. 167 (3): 359-368.
226. STUPAR, R.M.; BHASKAR, P.B.; YANDELL, B.S.; RENSINK, W.A.; HART, A.L.; OUYANG, S.; VEILLEUX, R.E.; BUSSE, J.S.; ERHARDT, R.J.; BUELL, C.R.; JIANG, J. 2007. Phenotypic and transcriptomic changes associated with potato autopolyploidization. *Genetics*. 176 (4): 2055-2067.
227. SUGIYAMA, S. 2005. Polyploidy and cellular mechanisms changing leaf size: comparison of diploid and autotetraploid populations in two species of *Lolium*. *Annals of Botany*. 96 (5): 931-938.
228. SYLVESTER, A.W.; CANDE, W.Z.; FREELING, M. 1990. Division and differentiation during normal and liguleless-1 maize leaf development. *Development*. 110 (3): 985-1000.
229. SYMONDS, R.; SALABERRY, S. 1978. Región Litoral-Oeste. Miscelánea no. 18: 65-81.
230. TAMARIN, R.H. 1996. Principios de genética. Barcelona, Reverté. 607 p.
231. TAYLOR, J. S.; RAES, J. 2005. Small-scale gene duplications. In: Gregory, T. R. ed. *The evolution of the genome*. San Diego, CA, Elsevier. pp. 289–327.

232. TEIXEIRA DA SILVEIRA, M.C.; JÚNIOR, D.DO N.; DA SILVA, S.C.; BATISTA EUCLIDES, V.P.; BATAGLIN MONTAGNER, D.; SBRISSIA, A.F.; SANTOS RODRIGUES, C.; DE LANA SOUSA, B.M.; DA SILVA PENA, K.; VILELA, H.E. 2010. Morphogenetic and structural comparative characterization of tropical forage grass cultivars under free growth. *Sciencia Agrícola*. 67 (2): 136-142.
233. THIAGARAJAH, M.R.; HUNT, L.A. 1982. Effects of temperature on leaf growth in corn (*Zea mays*). *Canadian Journal of Botany*. 60 (9): 1647-1652.
234. TOLLENAAR, M.; DAYNARD, T.B.; HUNTER, R.B. 1979. Effect of temperature on rate of leaf appearance and flowering date in maize. *Crop Science*. 19 (3): 363-369.
235. _____. 1984. Differences in rates of leaf appearance among maize hybrids and phases of development. *Canadian Journal of Plant Science*. 64 (3): 759-763.
236. UDALL, J.A.; WENDEL, J.F. 2006. Polyploidy and crop improvement. *Crop Science*. 46 (1): 3-14.
237. UNRUH, J.B.; GAUSSOIN, R.E.; WIEST, S.C. 1996. Basal growth temperatures and growth rate constants of warm-season turfgrass species. *Crop Science*. 36 (4): 997-999.
238. URUGUAY. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y PESCA, DIRECCIÓN DE SUELOS Y FERTILIZANTES. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay a escala 1/1.000.000. Montevideo. Uruguay. t.1, 96 p.

239. VAIO, M.; MAZZELLA, C.; PORRO, V.; SPERANZA, P.; LÓPEZ-CARRO, B.; ESTRAMIL, E.; FOLLE, G.A. 2007. Nuclear DNA content in allopolyploid species and synthetic hybrids in the grass genus *Paspalum*. *Plant Systematics and Evolution*. 265: 109-121.
240. VAN ESBROECK, G.A.; HUSSEY, M.A.; SANDERSON, M.A. 1998. Selection response and developmental basis for early and late panicle emergence in alamo switchgrass. *Crop Science*. 38 (2): 342-346.
241. _____.; _____.; _____. 2003. Variation between Alamo and Cave-in-rock Switchgrass in response to photoperiod extension. *Crop Science*. 43 (2): 639-643.
242. _____.; RUIZ CORRAL, J.A.; SANCHEZ GONZALEZ, J.J.; HOLLAND, J.B. 2008. A comparison of leaf appearance rates among teosinte, maize landraces and modern maize. *Maydica*. 53 (1): 117-123.
243. VARLET-GRANCHER, C.; BONHOMME, R. 1979. Application aux couverts vegetaux des lois de rayonnement en milieu diffusant. II. Interception de l'energie solaire par une culture. *Annales Agronomiques*. 30: 1-36.
244. VENUTO, B.C.; BURSON, B.L.; HUSSEY, M.A.; REDFEAM, D.D.; WYATT, W.E.; BROWN, L.P. 2003. Forage yield, nutritive value, and grazing tolerance of dallisgrass biotypes. *Crop Science*. 43 (1): 295-301.
245. VERNON, A.J.; ALLISON, J.C.S. 1963. A method of calculating net assimilation rate. *Nature*. 200 (4908): 814-814.

246. VOLENEC, J.J.; NELSON, C.J. 1983. Responses of tall fescue leaf meristems to N fertilization and harvest frequency. *Crop Science*. 23 (4): 720-724.
247. _____; _____. 1984. Carbohydrate metabolism in leaf meristems of tall fescue. I. Relationship to genetically altered leaf elongation rates. *Plant Physiology*. 74 (3): 590-594.
248. WANG, X.; SHI, X.; HAO, B.; GE, S.; LUO, J. 2005. Duplication and DNA segmental loss in the rice genome; implications for diploidization. *New Phytologist*. 165 (3): 937-946.
249. WARRINGTON, I.J.; KANEMASU, E.T. 1983. Corn growth response to temperature and photoperiod ii. Leaf-initiation and leaf-appearance rates. *Agronomy Journal*. 75 (5): 755-761.
250. WELCKER, C.; BOUSSUGE, B.; BENCIVENNI, C.; RIBAUT, J.M.; TARDIEU, F. 2007. Are source and sink strengths genetically linked in maize plants subjected to water deficit? A QTL study of the responses of leaf growth and of Anthesis-Silking Interval to water deficit. *Journal of Experimental Botany*. 58 (2): 339-349.
251. WEST, C.; BRIGGS, G.E.; KIDD, F. 1920. Methods and significant relations in the quantitative analysis of plant growth. *New Phytologist*. 19 (7-8): 200-207.
252. WHITE, J. 1979. The plant as a metapopulation. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*. 10: 109-145.
253. WHITE, P.J.; COOPER, H.D.; EARNSHAW, M.J.; CLARKSON, D.T. 1990. Effects of low temperature on the development and morphology of rye

(*Secale cereale*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Annals of Botany*. 66 (5): 559-566.

254. WILHELM, W.W.; MCMASTER, G.S. 1995. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. *Crop Science*. 35 (1): 1-3.

255. XUE, Q.; WEISS, A.; STEPHEN BAENZIGER, P. 2004. Predicting leaf appearance in field-grown winter wheat; evaluating linear and non-linear models. *Ecological Modelling*. 175 (3): 261-270.

10 ANEXOS

Anexo No. 1: Información de los genotipos de la colección a campo.

| NO Accesoión | Clon | Nombre | Grupo | Tipo de Material |
|---------------------|-------------|---------------|--------------|-----------------------------|
| PI 283015 | Dil62-8 | A1 | A | Recomb |
| 7674 | 113 | A2 | A | Recomb |
| 7618 | 108 | A3 | A | Recomb |
| 7430 | 69-1 | B1 | B | Recomb |
| 7543 | 67 | B2 | B | Recomb |
| 7656 | 59A | B3 | B | Recomb |
| 7440 | 73-7 | B4 | B | Recomb |
| 7593 | CoM.1 | b5 | B | Hibr Art |
| | Pf1 | | | |
| 7596 | CoM.2 | b6 | B | Hibr Art |
| | Pf1 | | | |
| 7563 | 109-1 | C1-a | c | Recomb |
| 7346 | 33-1 | C1-b | c | Recomb |
| PI 462261 | Dil44-1 | C1-c | c | Recomb |
| 7609 | 44 | C3 | c | Recomb |
| PI 310076 | Dil19-1 | C4 | c | Recomb |
| 7346 | 33-7 | C7 | c | Recomb |
| 7346 | 33-2 | a | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7563 | 109-5 | c | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7528 | 63 | d | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7540 | 28 | g | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7673 | 111 | h | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7619 | 114 | h | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7465 | 58-2 | i | d | Comun (Var. Mut.) |
| PI 576135 | Dil47 | m | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7606 | 42b | p | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7367 | 59H | s | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7525 | 117 | w | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7657 | 59C | x | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7529 | 49 | y | d | Comun (Var. Mut.) |
| 7439 | 72 | fl | f | Citp. Tetrpl. "Virasoro" |
| 7207 | V | v | v | Citp. Tetrpl. "Pd ssp flav" |
| 7197 | Ch4 | ch | ch | Citp Hexapl "Chirú" |

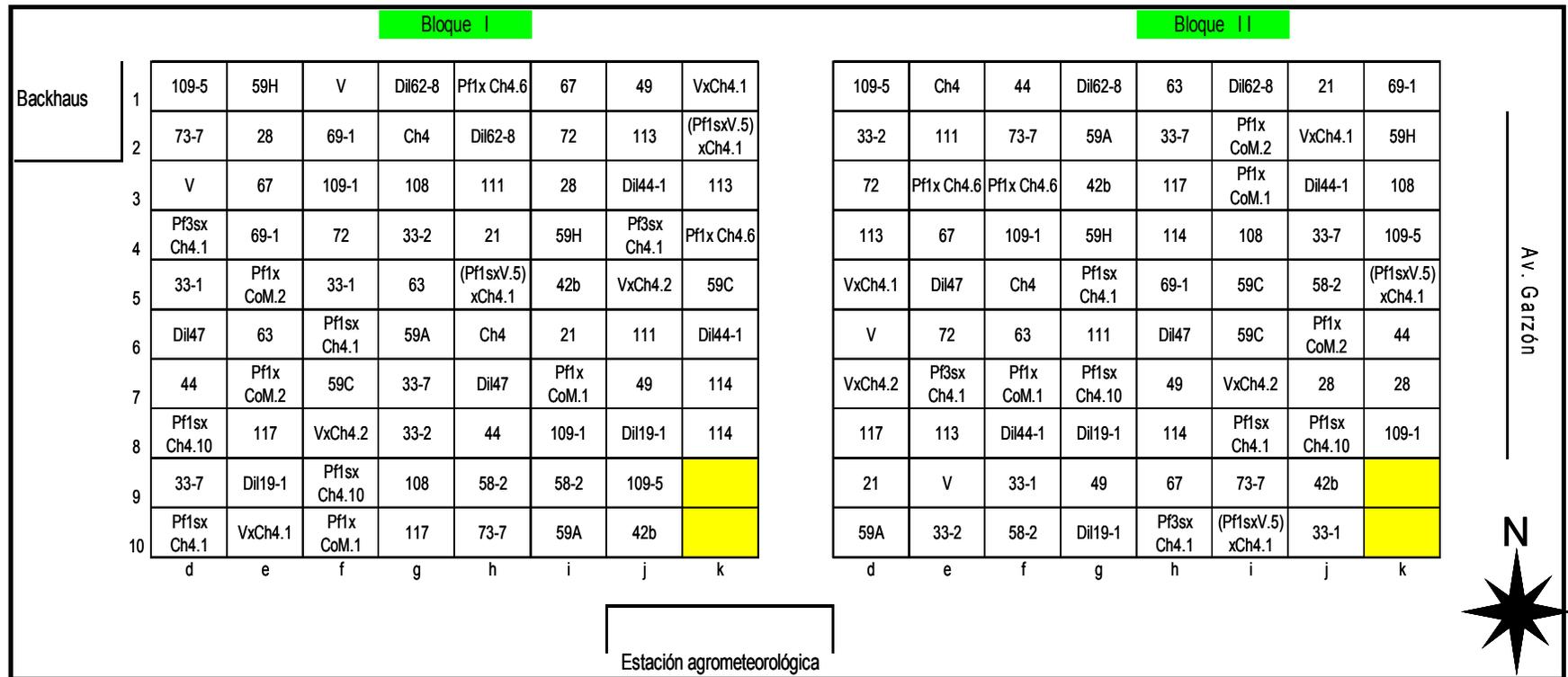
| NO Accesoión | Clon | Nombre | Grupo | Tipo de Material |
|---------------------|-------------|------------------|--------------|--------------------------|
| 7195 | 21 | u | u | Citp Hexapl "Uruguayana" |
| 7597 | Ch4.1 | PflsxCh4.1 | fch | Hibr Art |
| | Pfls | | | |
| 7197 | Ch4.10 | PflsxCh4.10 | fch | Hibr Art |
| 7218 | Pfls | | | |
| 7406 | Ch4.6 | PflxCh4.6 | fch | Hibr Art |
| | Pfl | | | |
| 7598 | Ch4.1 | Pf3sxCh4.1 | fch | Hibr Art |
| | Pf3s | | | |
| 7600 | Ch4.1 | vxCh1 | vch | Hibr Art |
| | V | | | |
| 7197 | Ch4.2 | vxCh2 | vch | Hibr Art |
| 7207 | V | | | |
| 7591 | Ch4 | (PflsxV.5)xCh4.1 | pvch | Hibr Art |
| | Pf1sxV.5 | | | |

| NO Accesoión | Clon | Nivel Ploidía | Lugar de Colecta |
|---------------------|-------------|----------------------|--|
| PI 283015 | Dil62-8 | 5x | Meseta de Artigas, Paysandu, Uruguay |
| 7674 | 113 | 5x | R 31. 30 km de Tacuarembó |
| 7618 | 108 | 5x | Camino a Cañada del pueblo. 4,5 km de R26 |
| 7430 | 69-1 | 5x | Puerto del Buceo, Mdeo. talud frente al puerto |
| 7543 | 67 | 5x | Brio. Sta. Ana, Colonia |
| 7656 | 59A | 5x | 797 m de entrada a V. Serrana R8 km 145 |
| 7440 | 73-7 | 5x | R12 a 600 m de R9 |
| 7593 | CoM.1 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 93-94 |
| | Pfl | | |
| 7596 | CoM.2 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 93-94 |
| | Pfl | | |
| 7563 | 109-1 | 5x | R 96 y 95 banquinas |
| 7346 | 33-1 | 5x | Quebrada de los Cuervos |
| PI 462261 | Dil44-1 | 5x | |
| 7609 | 44 | 5x | R26 km 400 der. |
| PI 310076 | Dil19-1 | 5x | |
| 7346 | 33-7 | 5x | Quebrada de los Cuervos |

| NO Accesión | Clon | Nivel Ploidía | Lugar de Colecta |
|------------------------|-------------|--------------------------|--|
| 7346 | 33-2 | 5x | Quebrada de los Cuervos |
| 7563 | 109-5 | 5x | R 96 y 95 banquinas |
| 7528 | 63 | 5x | Pta. Espinillo 3,5 km de km 20 R2 |
| 7540 | 28 | 5x | R8 km 242 der. 33°35'S54°35'W |
| 7673 | 111 | 5x | Masoller |
| 7619 | 114 | 5x | Tacuarembó ciudad |
| 7465 | 58-2 | 5x | Entrada a V. Serrana R8 km 145 |
| PI 576135 | Dil47 | 5x | |
| 7606 | 42b | 5x | rc hacia Polanco del Yí o R6. Arroyo Castro |
| 7367 | 59H | 5x | Entrada a V. Serrana R8 km 145 |
| 7525 | 117 | 5x | San Gregorio de Polanco |
| 7657 | 59C | 5x | Entrada a V. Serrana R8 km 145 |
| 7529 | 49 | 5x | R26 km 400 der. |
| 7439 | 72 | 4x | R12 a 600 m de R9 |
| 7207 | V | 4x | Quarín |
| 7197 | Ch4 | 6x | |
| 7195 | 21 | 6x | CENARGEN V12388 |
| 7597 | Ch4.1 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 96-97 |
| | Pf1s | | |
| 7197 | Ch4.10 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 98-99 |
| 7218 | Pf1s | | |
| 7406 | Ch4.6 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 93-94 |
| | Pf1 | | |
| 7598 | Ch4.1 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 96-97 |
| | Pf3s | | |
| 7600 | Ch4.1 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 96-97 |
| | V | | |
| 7197 | Ch4.2 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 98-99 |
| 7207 | V | | |
| 7591 | Ch4 | 5x | Facultad de Agronomía, Millán y Sayago, 96-97 |
| | Pf1sxV.5 | | |

Anexo No. 2: Croquis del ensayo.

Las coordenadas definidas por los números (1, 2, 3, 4, 5,...etc) y letras (a, b, c, d, e,..., etc) a los costados de los bloques, definen los cuadrados donde se ubica cada unidad experimental. El nombre del genotipo que está en cada unidad experimental se encuentra en el interior de cada cuadrado.



Anexo No. 3: Características de suelo sobre el cual está instalado el ensayo.

| HORZ | PROF (cm) | ESP (cm) | COLOR-H | CONCREC | PHAGUA |
|------|-----------|-----------|-----------|------------------------------|---------|
| Ap | 0-16 | 16 | 10YR2/2 | | 5,8 |
| Bt | 16-64 | 48 | 10YR2/1,5 | | 7,3 |
| Bck | 64-85 | 21 | 10YR3/2 | FeMn p 2 d y CaCO3 p d | 8 |
| Ck | 85+ | | 7,5YR5/3 | CaCO3 c 5 fr y p 3 d | 8,4 |
| HORZ | PHKCL | ARENA (%) | LIMO (%) | ARCILLA (%) | TEXTURA |
| Ap | 4,6 | 15,1 | 58,4 | 26,5 | FL |
| Bt | 5,7 | 7,8 | 42,2 | 50 | AcL |
| Bck | 6,8 | 8,9 | 42,2 | 48,9 | AcL |
| Ck | 7,1 | 8,3 | 44,4 | 47,3 | AcL |

Anexo No. 4: Información agrometeorológica para el período experimental.

| Fecha | Tmx | Tmn | T media | GD | GD Acum | PP.Pluv. (mm) |
|--------------|------------|------------|----------------|-----------|----------------|--------------------------|
| 15/10/06 | 20,6 | 11,4 | 16,0 | | 0,0 | 0 |
| 16/10/06 | 20,6 | 9,4 | 15,0 | 7,0 | 7,0 | 0 |
| 17/10/06 | 21,9 | 8,8 | 15,4 | 7,4 | 14,4 | 0 |
| 18/10/06 | 19,4 | 10,0 | 14,7 | 6,7 | 21,1 | 0 |
| 19/10/06 | 18,2 | 11,1 | 14,7 | 6,7 | 27,7 | 0 |
| 20/10/06 | 21,9 | 9,3 | 15,6 | 7,6 | 35,3 | 0 |
| 21/10/06 | 26,3 | 11,2 | 18,8 | 10,8 | 46,1 | 0 |
| 22/10/06 | 28,2 | 12,0 | 20,1 | 12,1 | 58,2 | 0 |
| 23/10/06 | 28,9 | 14,4 | 21,7 | 13,7 | 71,8 | 0 |
| 24/10/06 | 31,9 | 16,7 | 24,3 | 16,3 | 88,1 | 1,0 |
| 25/10/06 | 23,9 | 18,0 | 21,0 | 13,0 | 101,1 | 5,0 |
| 26/10/06 | 17,6 | 12,5 | 15,1 | 7,1 | 108,1 | 0 |
| 27/10/06 | 17,5 | 9,8 | 13,7 | 5,7 | 113,8 | 2,1 |
| 28/10/06 | 21,2 | 11,0 | 16,1 | 8,1 | 121,9 | 35,8 |
| 29/10/06 | 22,2 | 16,1 | 19,2 | 11,2 | 133,0 | 3,2 |
| 30/10/06 | 18,5 | 14,2 | 16,4 | 8,4 | 141,4 | 0 |
| 31/10/06 | 19,5 | 15,0 | 17,3 | 9,3 | 150,6 | 0 |
| 01/11/06 | 21,4 | 13,3 | 17,4 | 9,4 | 160,0 | 0 |
| 02/11/06 | 23,8 | 10,7 | 17,3 | 9,3 | 169,2 | 0 |
| 03/11/06 | 18,1 | 15,0 | 16,6 | 8,6 | 177,8 | 0 |
| 04/11/06 | 19,1 | 7,0 | 13,1 | 5,1 | 182,8 | 0 |
| 05/11/06 | 21,0 | 11,7 | 16,4 | 8,4 | 191,2 | 48,8 |
| 06/11/06 | 22,1 | 16,5 | 19,3 | 11,3 | 202,5 | 0 |
| 07/11/06 | 16,5 | 12,1 | 14,3 | 6,3 | 208,8 | 0 |
| 08/11/06 | 17,5 | 8,5 | 13,0 | 5,0 | 213,8 | 0 |
| 09/11/06 | 22,7 | 9,1 | 15,9 | 7,9 | 221,7 | 0 |
| 10/11/06 | 17,9 | 13,1 | 15,5 | 7,5 | 229,2 | 0 |
| 11/11/06 | 17,9 | 10,4 | 14,2 | 6,2 | 235,3 | 0 |
| 12/11/06 | 17,9 | 10,4 | 14,2 | 6,2 | 241,5 | 0 |
| 13/11/06 | 30,1 | 13,0 | 21,6 | 13,6 | 255,0 | 0 |
| 14/11/06 | 30,9 | 17,2 | 24,1 | 16,1 | 271,1 | 0 |
| 15/11/06 | 26,4 | 21,3 | 23,9 | 15,9 | 286,9 | 29,4 |
| 16/11/06 | 22,6 | 16,4 | 19,5 | 11,5 | 298,4 | 0 |
| 17/11/06 | 17,3 | 13,3 | 15,3 | 7,3 | 305,7 | 0 |
| 18/11/06 | 19,4 | 10,1 | 14,8 | 6,8 | 312,5 | 0 |
| 19/11/06 | 23,0 | 9,6 | 16,3 | 8,3 | 320,8 | 0 |
| 20/11/06 | 24,5 | 11,4 | 18,0 | 10,0 | 330,7 | 0 |

| Fecha | Tmx | Tmn | T media | GD | GD Acum | PP.Pluv. (mm) |
|--------------|------------|------------|----------------|-----------|----------------|--------------------------|
| 21/11/06 | 27,1 | 13,5 | 20,3 | 12,3 | 343,0 | 0 |
| 22/11/06 | 24,9 | 16,9 | 20,9 | 12,9 | 355,9 | 0 |
| 23/11/06 | 30,8 | 14,6 | 22,7 | 14,7 | 370,6 | 4,2 |
| 24/11/06 | 29,9 | 18,4 | 24,2 | 16,2 | 386,8 | 15,3 |
| 25/11/06 | 23,5 | 17,8 | 20,7 | 12,7 | 399,4 | 0 |
| 26/11/06 | 21,0 | 15,6 | 18,3 | 10,3 | 409,7 | 0 |
| 27/11/06 | 18,6 | 14,7 | 16,7 | 8,7 | 418,4 | 0 |
| 28/11/06 | 22,5 | 11,0 | 16,8 | 8,8 | 427,1 | 0 |
| 29/11/06 | 25,7 | 9,7 | 17,7 | 9,7 | 436,8 | 0 |
| 30/11/06 | 28,5 | 15,3 | 21,9 | 13,9 | 450,7 | 0 |
| 01/12/06 | 29,9 | 16,5 | 23,2 | 15,2 | 465,9 | 1,6 |
| 02/12/06 | 29,1 | 20,1 | 24,6 | 16,6 | 482,5 | 0 |
| 03/12/06 | 21,8 | 18,4 | 20,1 | 12,1 | 494,6 | 0 |
| 04/12/06 | 22,0 | 16,9 | 19,5 | 11,5 | 506,1 | 0 |
| 05/12/06 | 23,0 | 12,5 | 17,8 | 9,8 | 515,8 | 0 |
| 06/12/06 | 24,0 | 14,8 | 19,4 | 11,4 | 527,2 | 0 |
| 07/12/06 | 26,1 | 12,3 | 19,2 | 11,2 | 538,4 | 0 |
| 08/12/06 | 28,9 | 14,8 | 21,9 | 13,9 | 552,3 | 0 |
| 09/12/06 | 27,6 | 16,7 | 22,2 | 14,2 | 566,4 | 0 |
| 10/12/06 | 32,7 | 17,1 | 24,9 | 16,9 | 583,3 | 0 |
| 11/12/06 | 33,0 | 18,8 | 25,9 | 17,9 | 601,2 | 0 |
| 12/12/06 | 32,0 | 19,2 | 25,6 | 17,6 | 618,8 | 0 |
| 13/12/06 | 30,5 | 21,0 | 25,8 | 17,8 | 636,6 | 16,5 |
| 14/12/06 | 27,5 | 19,5 | 23,5 | 15,5 | 652,1 | 2,3 |
| 15/12/06 | 25,2 | 20,5 | 22,9 | 14,9 | 666,9 | 0 |
| 16/12/06 | 33,8 | 18,8 | 26,3 | 18,3 | 685,2 | 59,6 |
| 17/12/06 | 27,6 | 18,1 | 22,9 | 14,9 | 700,1 | 0,1 |
| 18/12/06 | 21,1 | 17,2 | 19,2 | 11,2 | 711,2 | 0 |
| 19/12/06 | 29,2 | 19,7 | 24,5 | 16,5 | 727,7 | 8,5 |
| 20/12/06 | 22,7 | 19,5 | 21,1 | 13,1 | 740,8 | 1,0 |
| 21/12/06 | 27,6 | 13,5 | 20,6 | 12,6 | 753,3 | 0 |
| 22/12/06 | 30,4 | 17,6 | 24,0 | 16,0 | 769,3 | 0 |

Anexo No. 5: Resultados de Filocrón por Genotipo (ordenados por valor de filocrón de menor a mayor).

| Genotipo | Grupo Genético | Nivel de Ploidía | Filocrón (GD/hoja) |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| 72 | f | 4 | 81,9 |
| VxCh4.2 | vch | 5 | 83,4 |
| 73-7 | B | 5 | 84,3 |
| Dil47 | d | 5 | 85,3 |
| PflxCoM.1 | B | 5 | 86,2 |
| V | v | 4 | 86,8 |
| 69-1 | B | 5 | 89,3 |
| 109-5 | d | 5 | 90,6 |
| 108 | A | 5 | 91,5 |
| 67 | B | 5 | 94,3 |
| 59H | d | 5 | 94,9 |
| 59A | B | 5 | 96,2 |
| 63 | d | 5 | 97,1 |
| PflsxCh4.1 | fch | 5 | 97,2 |
| 111 | d | 5 | 97,4 |
| 33-2 | d | 5 | 97,7 |
| 58-2 | d | 5 | 98,4 |
| Ch4 | ch | 6 | 98,5 |
| 33-1 | C | 5 | 98,8 |
| 28 | d | 5 | 99,6 |
| 113 | A | 5 | 99,9 |
| 44 | C | 5 | 100,8 |
| 42b | d | 5 | 102,6 |
| 49 | d | 5 | 102,9 |
| Dil19-1 | C | 5 | 103,0 |
| 117 | d | 5 | 103,6 |
| PflxCoM.2 | B | 5 | 104,0 |
| 21 | U | 6 | 104,4 |
| 59C | d | 5 | 105,4 |
| 114 | d | 5 | 105,6 |
| Dil62-8 | A | 5 | 106,1 |
| PflsxCh4.10 | fch | 5 | 106,6 |
| Pf3sxCh4.1 | fch | 5 | 108,8 |
| VxCh4.1 | vch | 5 | 108,8 |
| 33-7 | C | 5 | 110,1 |
| 109-1 | C | 5 | 112,5 |

| | | | |
|------------------|-----|---|-------|
| Dil44-1 | C | 5 | 123,3 |
| PflxCh4.6 | fch | 5 | 127,0 |
| (PflsxV.5)xCh4.1 | fch | 5 | 127,5 |

Anexo No. 6: Resultados de TEF por Genotipo (ordenados por valor de TEF de menor a mayor).

| Genotipo | Grupo genético | Nivel de Ploidía | TEF (mm / GD / macollo) |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------|
| PflxCoM.2 | B | 5 | 15,5 |
| 33-7 | C | 5 | 15,8 |
| PflxCoM.1 | B | 5 | 16,3 |
| 67 | B | 5 | 17,1 |
| 44 | C | 5 | 17,8 |
| 33-2 | d | 5 | 18,1 |
| 73-7 | B | 5 | 18,3 |
| 111 | d | 5 | 18,6 |
| 63 | d | 5 | 19,6 |
| 58-2 | d | 5 | 19,8 |
| 117 | d | 5 | 19,9 |
| Dil47 | d | 5 | 19,9 |
| Dil62-8 | A | 5 | 20,6 |
| PflsxCh4.10 | fch | 5 | 20,9 |
| 109-5 | d | 5 | 21,1 |
| Dil44-1 | C | 5 | 21,2 |
| 59A | B | 5 | 21,7 |
| 59H | d | 5 | 21,9 |
| 42b | d | 5 | 22,5 |
| Dil19-1 | C | 5 | 22,9 |
| 49 | d | 5 | 22,9 |
| 113 | A | 5 | 23,6 |
| 72 | f | 4 | 23,7 |
| 114 | d | 5 | 24,5 |
| 33-1 | C | 5 | 24,6 |
| PflxCh4.6 | fch | 5 | 24,6 |
| 28 | d | 5 | 25,2 |
| PflsxCh4.1 | fch | 5 | 25,4 |
| V | v | 4 | 25,5 |
| 69-1 | B | 5 | 25,6 |
| 59C | d | 5 | 25,7 |
| 108 | A | 5 | 25,9 |
| 21 | U | 6 | 26,0 |
| 109-1 | C | 5 | 26,0 |
| VxCh4.1 | vch | 5 | 26,1 |
| Ch4 | ch | 6 | 26,4 |

| | | | |
|------------------|-----|---|------|
| Pf3sxCh4.1 | fch | 5 | 27,1 |
| VxCh4.2 | vch | 5 | 27,6 |
| (PflsxV.5)xCh4.1 | fch | 5 | 29,6 |