



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**IMPACTO DE LA INTROGRESIÓN DEL GEN DE RESISTENCIA A IMIDAZOLINONAS
SOBRE SORGO GRANIFERO (*Sorghum bicolor* L. Moench)**

Ing. Agr. Lisandro Joaquin Guillaumet

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER EN GENÉTICA VEGETAL

DIRECTOR: Dra. Brenda Gambin (UNR-CONICET)

Co-Director: Ing Agr. Msc Santiago Renteria

2021

**IMPACTO DE LA INTROGRESIÓN DEL GEN DE RESISTENCIA A IMIDAZOLINONAS
SOBRE SORGO GRANIFERO (*Sorghum bicolor* L. Moench)**

Lisandro Joaquin Guillaumet

Ingeniero Agrónomo - Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis está presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Magister en Genética Vegetal, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la empresa Advanta Semillas SAIC, durante el período comprendido entre noviembre de 2018 y diciembre de 2021, bajo la dirección de la Dra. Brenda Gambin.



Ing. Agr. Lisandro Joaquin Guillaumet

Maestrando



Dra. Brenda Gambin

Director



Ing Agr. Msc Santiago Renteria

Co-director

Defendida: de 20_____

AGREDECIMIENTOS

A la Dra. Brenda Gambín, por ser la directora de mi tesis de magister, por abrirme las puertas, brindarme su apoyo a través de sus conocimientos, por el tiempo y dedicación.

A mi co-director, Ing. Agr. Msc Santiago Renteria, por el sostén y saberes aportados durante toda esta etapa de formación.

A Pedro Pardo, quien insistió y apostó en todo momento a mi formación y aptitudes para seguir capacitándome.

A la empresa ADVANTA SEMILLAS SAIC, por permitirme desarrollar este proyecto, brindándome, el tiempo y los recursos necesarios para poder lograrlo.

A mis compañeros de trabajo, Oscar Allovatti, Job Maldonado, Paulo Serrano quienes desinteresadamente pudieron cubrir mis actividades en épocas de cursado y ayudaron incansablemente a poder desarrollar todos los experimentos.

A mis afectos, mi familia, amigos, quienes estuvieron en los momentos mas duros de esta etapa brindando esas palabras de aliento necesarias para no bajar los brazos.

En especial a esa persona que en el peor momento estuvo para brindarme las palabras justas que necesitaba para continuar en este camino.

PRESENTACIONES A CONGRESOS

INDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	6
RESUMEN	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCION.....	9
OBJETIVO GENERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
HIPÓTESIS.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN GENERAL.....	32
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA.....	37
ANEXO	41

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

VT-18: Venado Tuero (Santa Fe), campaña 2018/1019.

VT-19: Venado Tuerto (Santa Fe), campaña 2019/2020.

AR-19: Arequito (Santa Fe), campaña 2019/2020.

GA-19: Gálvez (Santa Fe), campaña 2019/2020.

m²: metros cuadrados.

m: metros lineales.

cm: centímetros.

FTD: antesis, 50% de plantas emitiendo polen.

MF: madurez fisiológica.

HGT: altura de planta.

NG: número de granos por m².

P1000: peso de 1000 granos.

RESUMEN

El cultivo de sorgo sufre importantes pérdidas de rendimiento debido a la competencia con malezas y su control es vital para reducirlas. La resistencia a las imidazolinonas en el cultivo de sorgo (conocida comercialmente como Igrowth) es reciente y otorga la posibilidad del control de malezas en aplicaciones pos-emergentes. Las resistencias a herbicidas en los cultivos casi siempre tienen un costo de adaptación que puede repercutir directamente en la capacidad productiva. En este sentido, el propósito de la presente tesis es estudiar el impacto de la resistencia sobre el rendimiento y otros atributos de interés sobre sorgo granífero. Para ellos, se evaluó la incorporación del gen Igrowth sobre diferentes fondos genéticos en experimentos con y sin la aplicación de herbicida realizados en diferentes ambientes. Se trabajó con un total de cinco híbridos convencionales y sus isohíbridos Igrowth generados a través del método de retrocruza. No se detectaron efectos significativos del carácter sobre el rendimiento para ninguno de los isohíbridos evaluados, conduciendo de esta manera a que no existen mermas de rendimiento en grano por la introgresión del carácter. A diferencia de esto, las variables fenotípicas estudiadas mostraron efectos de la introgresión del carácter. La aplicación del herbicida no generó diferencias significativas en biomasa aérea. La interacción del carácter por ambiente fue no significativa y no hubo efectos significativos del tratamiento con el ambiente. Estos resultados permiten concluir que la mutación que otorga resistencia al grupo químico imidazolinonas es segura para la producción de híbridos comerciales.

Palabras claves: Imidazolinonas, Igrowth, resistencia a herbicidas, fondo genético, interacción genotipo x ambiente.

ABSTRACT

IMPACT OF THE INTROGRESSION OF THE IMIDAZOLINONE-RESISTANCE GENE IN GRAIN SORGHUM (*Sorghum bicolor* L. Moench)

The sorghum crop suffers significant yield losses due to competition with weeds therefore, their control is vital to reduce them. Resistance to imidazolinones in sorghum is recent and provides the possibility of weed control in post-emergent applications. Herbicide resistance in crops almost always has an adaptation cost that can have a direct impact on productive capacity. The purpose of this thesis is to study the impact of resistance on yield and other attributes of interest on grain sorghum. The incorporation of the Igrowth gene on different genetic backgrounds was evaluated in experiments with and without herbicide application in different environments. Five conventional hybrids and their Igrowth isohybrids generated through the backcross method were selected. No significant effects of the character were detected on yield in any of the evaluated isohybrids, leading to the conclusion that there is no loss of grain yield due to the introgression of the character. In contrast, the phenotypic variables studied showed effects of character introgression. No significant differences were observed in aerial biomass with the herbicide application. The character-by-environment interaction was not significant and there were no significant effects of treatment-by-environment. These results would lead us to the conclusion that the mutation that gives resistance to the imidazolinones chemical group is safe to produce commercial hybrids.

INTRODUCCION

Control de malezas y desarrollo de resistencia a herbicidas en el cultivo de sorgo

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es un cereal de gran adaptación, que por sus características agronómicas y nutricionales puede aportar grandes beneficios en la alimentación, tanto humana como animal, a nivel mundial o nacional (Pérez *et al.*, 2010). En nuestro país, la producción de sorgo ha ido incrementando durante los últimos años, presentando una alternativa cada vez más sólida dentro de una rotación agrícola sustentable y con buenos resultados económicos (Bolsa de Cereales, 2021). La demanda de sorgo se compone esencialmente de la molienda para alimentación y exportación. Los que demandan para molienda son principalmente firmas dedicadas a la producción ganadera y lechera, mientras que las ventas externas se componen principalmente de grandes comerciantes internacionales (Barberis y Sánchez, 2013).

El sorgo es un cultivo valorado por los productores por sus bajos costos de producción, y por su particular habilidad de resistir a diferentes tipos de estrés abiótico cuando se lo compara con otros cereales (Dogget, 1988). Por esta razón, el sorgo es usualmente destinado a suelos pobres (i.e. suelos de baja materia orgánica, someros, salinos). Esto incluso se ha intensificado en las últimas décadas con la mayor difusión de cultivos rentables como el maíz y la soja (Parra *et al.*, 2020).

Debido a que el sorgo es usualmente destinado a suelos o ambientes pobres, la aplicación de tecnología es particularmente baja, especialmente cuando se la compara con otros cultivos (Brihet, 2017). La proporción de productores que aplican baja tecnología en sus campos ha aumentado en la última década (Brihet y Gayo, 2016). Esto incluye la ausencia de aplicación de fertilizantes (o mínimas dosis de nitrógeno sin evaluación de la cantidad disponibles en el suelo) y pobre o nulo control de malezas, uno de los principales problemas del cultivo. Las malezas han sido el principal factor biótico en la pérdida de rendimiento y su control en los sistemas de cultivo modernos es vital para cubrir las demandas mundiales de alimento (Délye *et al.*, 2013). La falta de tecnología en lo que respecta al control de malezas es una de las principales causas que desmotiva la siembra de sorgo.

Los herbicidas son la herramienta más poderosa y efectiva para el control de las malezas en los cultivos (Sabbatini *et al.*, 2004). Sin embargo, las opciones de control de malezas en sorgo son limitadas. Para el control de gramíneas existen pocos herbicidas registrados para utilizar en pre-emergencia y post-emergencia. El uso de S-metolacoloro en pre-emergencia es una de las mejores estrategias frente a gramíneas, sobre todo en mezcla con atrazina. El uso de S-metolacoloro requiere que la semilla sea tratada con antídoto

fluxofenim 96%, lo que encarece la producción de semillas y su costo, algo que normalmente no es conveniente en un cultivo de general baja aplicación de tecnología. Para el control de malezas de hoja ancha se pueden utilizar una serie de herbicidas como el 2,4-D, picloram, clopiralyd y dicamba, aunque algunos de ellos pueden provocar ciertos daños de fitotoxicidad al cultivo. La ventana de aplicación para estos productos es reducida, entre 3 y 8 hojas y lo más temprano posible (Carrasco *et al.*, 2011), lo que ciertamente limita las opciones disponibles para un buen control de malezas.

Cada vez se hace más difícil descubrir un nuevo herbicida y más difícil aún es encontrar un nuevo modo de acción del mismo (Tan *et al.*, 2005). Por este motivo, extender la utilidad de los herbicidas existentes, que controlan un amplio espectro de malezas y a la vez provocan reducidos efectos sobre el ambiente, a través de la resistencia genética es de gran utilidad como estrategia en el desarrollo de herbicidas selectivos (Tan *et al.*, 2005). La modificación genética para lograr la resistencia y que un herbicida logre ser usado en un cultivo sensible puede ser lograda mediante técnicas tradicionales o transgénicas (Tan *et al.*, 2006). Los cultivos resistentes a herbicidas lo logran a partir de uno de siguientes tres mecanismos: resistencia al sitio de acción, detoxificación metabólica y prevención del herbicida de llegar al sitio de acción (Sherman *et al.*, 2018). El desarrollo de uno o más de estos mecanismos a través de modificación genética podría proveer de un cultivo resistente a un herbicida (Knezevic, 2007). Estos cultivos son identificados como cultivos resistentes a herbicidas.

Los herbicidas de la clase de las imidazolinonas, imazapyr, imazapic, imazethapyr, imazamox, imazamethabenz e imazaquin, fueron descubiertos y liberados en las décadas de 1980 y 1990 (Shaner *et al.*, 1997). Estos herbicidas presentan un gran espectro de control de malezas, flexibilidad en el momento de aplicación, bajas dosis de uso y baja toxicidad para mamíferos (Tan *et al.*, 2005). Los mismos inhiben la actividad de la enzima aceto-hidroxiácido sintasa (AHAS), también conocida como acetolactato sintasa o ALS (Shaner *et al.*, 1984), primera enzima en la ruta de síntesis de los aminoácidos ramificados valina, leucina e isoleucina (Singh, 1999). Se ha demostrado que esta misma enzima es el sitio de acción de otros herbicidas, como las sulfonilureas (Ray, 1984), las triazolopirimidinas (Subramanian y Gerwick, 1989), los pirimidilbenzoatos (Subramanian *et al.*, 1990) y las sulfonilaminocarbonil-triazolinonas (Yu *et al.*, 2010).

Las mutaciones en los genes que confieren resistencia a las imidazolinonas son conocidas (Tan *et al.*, 2005). La mayoría de los cultivos resistentes a las imidazolinonas son desarrollados con mutaciones específicas. Desde la liberación comercial inicial de la resistencia en híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en 1992, se han desarrollado y comercializado

materiales resistentes a las imidazolinonas a partir de mutaciones en otras cinco especies. Ellas son colza (*Brassica napus*), trigo (*Triticum aestivum*), arroz (*Oryza sativa*), girasol (*Helianthus annuus*) y lenteja (*Lens culinaris*). Todos los cultivos resistentes han sido desarrollados a través de selección o mutagénesis, utilizando técnicas de mejoramiento convencionales, y por lo tanto son no-trangénicos. La resistencia está basada en una mutación en el sitio de acción que reduce la sensibilidad de la enzima AHAS al herbicida (Tan *et al.*, 2005).

La resistencia a las imidazolinonas en el cultivo de sorgo es relativamente reciente (patente US20140245499 A1, aplicada en más de 100 países que fue desarrollada por la empresa ADVANTA SEMILLAS SAIC; Trucillo Uriarte *et al.*, 2012). Estos sorgos se denominan comercialmente "Igrowth". Es factible que en sorgo la resistencia no esté solo relacionada al sitio de acción. En algunos fondos genéticos existen genes modificadores que aumentan la tasa de metabolismo del herbicida y explicarían los niveles de resistencia agronómicos a estos herbicidas (Kershner, 2010, Abit y Al-Khatib, 2013).

La incorporación del carácter se realiza por el método de retrocruza. Este método es especialmente apto para llevar determinados alelos de un genotipo deficiente en una o unas pocas características (Al-Khayri *et al.*, 2015). El método consiste en hacer 4 a 6 retrocruzas con el progenitor recurrente que es la variedad con las mejores características agronómicas pero deficiente en una o unas pocas. En cada generación de retrocruza se debe seleccionar por el carácter o caracteres que se quieren transferir del progenitor donante (en este caso particular, la resistencia a un herbicida). Las retrocruzas repetidas tienen por objeto recuperar el genotipo del progenitor recurrente. Al finalizar se obtiene un genotipo con las mismas características del recurrente, pero superior al progenitor en el carácter particular para el cual se emprendió la mejora. Este método es el que se utiliza para obtener líneas isogénicas o isolíneas (Al-Khayri *et al.*, 2015).

El gen AHAS mutado que confiere resistencia a las imidazolinonas es de dominancia incompleta, por lo que la resistencia completa se manifiesta cuando ambos parentales son resistentes.

Comportamiento agronómico de los materiales resistentes

La resistencia a un herbicida normalmente implica un costo de adaptación por parte de la planta (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Estos costos de adaptación han sido ampliamente estudiados en malezas resistentes a distintos herbicidas. En el caso de malezas resistentes, entender el costo de adaptación a la resistencia en presencia y ausencia de herbicida es

importante para predecir la dinámica evolutiva de la resistencia (Neve *et al.*, 2003). Así, se han definido al menos tres causas del origen del costo de adaptación. El primero está asociado a que la mutación en la enzima objetivo, que confiere la resistencia al herbicida, también interfiere en algún nivel en otras funciones normales o metabolismo de las plantas (Vila-Aiub *et al.*, 2009) Por ejemplo, una sustitución de un aminoácido puede causar la modificación estructural de la enzima objetivo que limita la unión del herbicida, pero también compromete la eficiencia de la función enzimática y cinética (Tranel y Wright, 2002, Délye *et al.*, 2005). El segundo está asociado a que la resistencia implica un costo energético o uso de recursos que reduce su disponibilidad para otros destinos importantes como crecimiento y reproducción, algo observado cuando la resistencia implica un aumento del metabolismo (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Resistencias a herbicidas dependiente de la producción nueva o aumentada de enzimas de la familia del citocromo P450 genera inversiones adicionales de energía y recursos que se desvían de los recursos destinados a crecimiento y reproducción (Werck-Reichhart *et al.*, 2000). El tercer costo de adaptación implica efectos pleiotrópicos como, por ejemplo, una mayor susceptibilidad del fenotipo resistente a ciertas enfermedades (Salzmann *et al.*, 2008).

Efectos pleiotrópicos del alelo mutante que confiere resistencia a herbicidas se ha observado en otros cultivos (Darmency, 2013), en numerosas especies de malezas (Vila Aiub *et al.*, 2009) y en *Arabidopsis thaliana* (Purrington y Bergelson, 1999). En este último caso, la resistencia a herbicidas hormonales tuvo efectos pleiotrópicos en la morfología de la hoja, la longitud del hipocótilo y la altura de la planta (Vila Aiub *et al.*, 2009). En girasol, ocasionalmente ocurren reducciones en la altura de planta o amarillamiento luego de la aplicación del herbicida, efectos que a la vez dependen del fondo genético y son más pronunciados en ambientes bajo estrés abiótico (como estrés hídrico, altas temperaturas, excesos de agua, etc) (Ochogavía *et al.*, 2014).

En cultivos resistentes, un costo adicional de adaptación a la resistencia sería el asociado al arrastre por ligamiento debido al método de obtención de los materiales resistentes. En el caso de girasol, el arrastre por ligamiento resultó en una reducción de los rendimientos y el porcentaje de aceite de los primeros materiales resistentes (conocidos como "Imisun") respecto a su contraparte convencional (Weston *et al.*, 2012). Esto se debe a que la resistencia inicial en girasol fue detectada en materiales silvestres, que posteriormente fueron usados como donantes para el desarrollo de líneas resistentes (Al-Khatib *et al.*, 1998). La incorporación del carácter por el método de retrocruza implicó la introgresión de genes desfavorables que se heredaron junto a los genes deseados (Trucillo Silva *et al.*, 2010). La pérdida de rendimiento fue posteriormente superada con materiales liberados sobre una nueva mutación y sobre un fondo genético deseado (conocidos como Clearfield Plus; Weston

et al., 2012). Similares resultados fueron encontrados en otros cultivos como el arroz, donde los materiales resistentes a las imidazolinonas de primera generación rindieron alrededor de un 11% menos que los cultivares convencionales líderes; aunque esa brecha de rendimiento se ha reducido con el lanzamiento de los nuevos cultivares (Sha *et al.*, 2007).

No hay evidencias concretas del impacto de la resistencia a las imidazolinonas a través del carácter Igrowth en diferentes atributos agronómicos del cultivo de sorgo, sobre todo en diferentes fondos genéticos de interés comercial. La presente tesis estudió el costo o impacto de la resistencia en diferentes fondos genéticos y en diferentes ambientes representativos de la producción de sorgo en la región central.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto productivo de la introgresión del gen de resistencia “Igrowth” en híbridos elites de sorgo granífero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar el impacto sobre el rendimiento y otros atributos fenotípicos de la introgresión del gen “Igrowth” en diferentes germoplasmas de sorgo en ausencia y presencia del herbicida.
2. Evaluar posibles interacciones genotipo x ambiente en ausencia y presencia del herbicida.

HIPÓTESIS

Las hipótesis de trabajo son las siguientes:

1. La incorporación del gen “Igrowth” que confiere resistencia a los herbicidas ALS del grupo de las imidazolinonas en sorgos graníferos no genera merma de rendimiento estadísticamente significativas tanto en ausencia como en presencia del herbicida.
2. Las posibles interacciones genotipo x ambiente estarán dadas por la interacción del fondo genético con el ambiente y no estará asociada particularmente al gen de resistencia.

MATERIALES Y METODOS

La presente tesis incluye dos tipos de experimentos: (1) experimentos sin aplicación de herbicida y (2) experimentos con aplicación de herbicida.

Ambos tipos de experimentos fueron desarrollados durante dos estaciones de crecimiento, 2018/2019 y 2019/2020. Durante la campaña 2018/2019 los experimentos se realizaron en la localidad de Venado Tuerto (VT-18), y durante la campaña 2019/2020 los experimentos se realizaron en tres localidades, Venado Tuerto (VT-19), Arequito (AR-19) y Gálvez (GA-19). Cada combinación de localidad y campaña será nombrada por su abreviatura.

El manejo de la densidad y la fertilización fue similar en todos los ensayos, y fueron representativos de la producción de sorgo en la región central. Los experimentos fueron sobresembradas y raleados a la densidad objetivo de 190.000 plantas ha⁻¹ luego de la emergencia. La fertilización consistió en 110 kg ha⁻¹ de fosfato monoamónico incorporado en la línea de siembra y 150 kg ha⁻¹ de urea incorporado en el entresurco al momento de siembra. Los ensayos se mantuvieron libres de malezas, plagas y enfermedades. A la madurez del cultivo, la cosecha de grano fue llevada a cabo mediante una cosechadora experimental de 4 surcos con registro de peso, humedad y peso hectolitrito por parcela.

Experimentos sin aplicación de herbicida

Estos experimentos pretendieron cuantificar el impacto sobre el rendimiento y otros atributos fenotípicos del gen *Igrowth* en diferentes germoplasmas y determinar posibles interacciones genotipo x ambiente en ausencia de la aplicación del herbicida. Para ello se utilizaron cinco grupos de isohíbridos (Tabla 1) con ausencia (Convencional, Conv) y presencia del carácter (*Igrowth*).

Tabla 1. Lista de grupos de isohíbridos evaluados.

Grupo	Híbrido	
	Sin caracter <i>Igrowth</i>	Con caracter <i>Igrowth</i>
1	VDH422	Exp 1
2	Exp 2	Exp 3
3	Exp 4	Exp 5
4	Exp 6	Exp 7
5	Exp 8	ADV1250

Estos isohíbridos se han obtenidos a partir de la incorporación del atributo Igrowth a líneas elite a través de retrocruzas y selección con marcadores moleculares (Fig. 1). El método de retrocruza comienza a partir de un cruzamiento entre la línea que se quiere convertir (usada como receptora de polen) y la línea donora (usada como fuente de polen). Este proceso es seguido por un proceso de selección asistida con marcadores moleculares, donde no sólo evalúa la presencia del carácter sino que también se lleva a cabo una selección por homología (semejanza de la línea que se está convirtiendo con la recurrente). Finalmente, lo que se obtiene es una isolínea, es decir, la misma línea original con el carácter incorporado. Luego de obtener las isolíneas es posible obtener un “isohíbrido” utilizando las isolíneas correspondientes. Para todas las isolíneas se utilizó la misma línea donora (donante universal por grupo) del carácter a partir de la cual se dio comienzo al proceso de retrocruza.

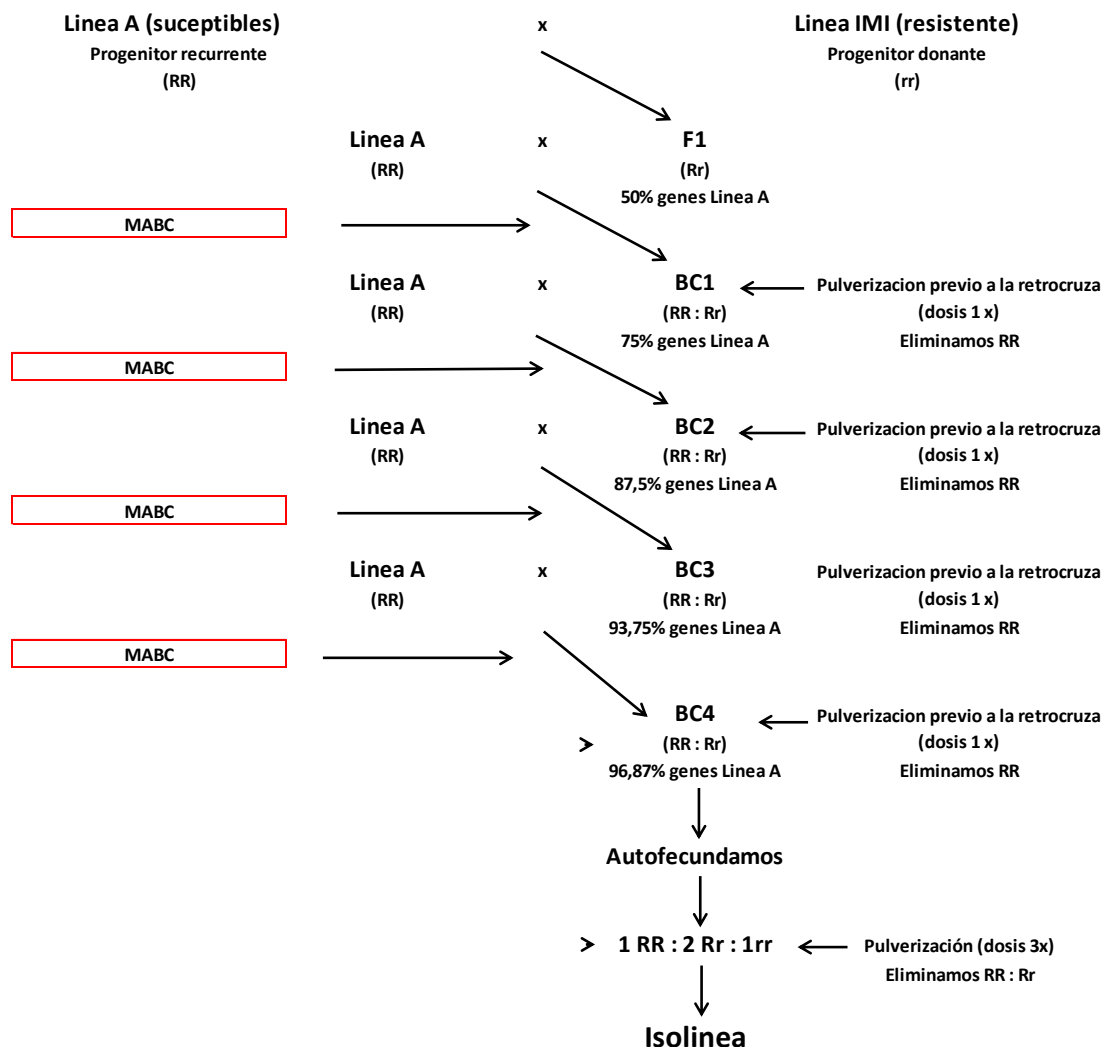


Fig. 1. Método de obtención de isolíneas IMI.

La siembra tuvo lugar en VT-18 el 16 de noviembre, y 22, 11 y 13 de noviembre para VT-19, AR-19 y GA-19, respectivamente. El diseño utilizado fue en bloques completamente aleatorizados con siete repeticiones en Venado Tuerto, dos en Arequito y dos en Gálvez. Se utilizaron micro parcelas de 10,4 m², compuestas de cuatro surcos a 0,52 m de espaciamiento y 5 m de largo.

Las variables fenotípicas registradas fueron:

- Fenología: se registraron los momentos de antesis cuando el 50% de las panojas se encontraban emitiendo polen y de madurez fisiológica, definida como la presencia de capa negra de grano en la base de la panoja en al menos cinco plantas de diez consecutivas (van Oosterom *et al.*, 2008).
- Altura de planta: altura de planta en madurez fisiológica. Para ellos se midió la altura desde la base del tallo hasta el extremo apical de la panoja en tres plantas consecutivas por parcela usando una regla.
- Rendimiento y componentes numéricos: usando una cosechadora experimental montada con sistema *Harvest Master* se procedió a la cosecha de todos los ensayos, obteniéndose el registro de rendimiento, humedad y peso hectolítrico por parcela. El tercer surco de cada parcela fue utilizado para estimar el peso de 1000 granos a partir de una alícuota de 400 granos. El número de granos por m² fue obtenido mediante el cociente entre el rendimiento y el peso de mil granos.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando modelos lineales de efectos mixtos (paquete nlme) en Infostat con su interfaz en R (R Core Team, 2017, versión 3.4.1). Se realizaron ANOVA a partir de dos tipos de modelos planteados de acuerdo a los objetivos. En un primer análisis y para evaluar el impacto del carácter Igrowth en diferentes germoplasmas, se ajustó un modelo por ambiente (definido como la combinación de cada localidad x año) y luego para el conjunto de ambientes teniendo en cuenta al efecto grupo, carácter y la interacción grupo x carácter como efectos fijos, mientras que el resto de los efectos (repetición, y repetición anidado en ambiente para el análisis conjunto) fueron considerados aleatorios. En un segundo análisis y para evaluar la interacción con el ambiente, los efectos grupo, carácter y ambiente y todas sus interacciones fueron considerados fijos. Los modelos fueron ajustados a través del método REML (Patterson y Thompson, 1975) y corregidos por heterogeneidad de varianzas entre ambientes. Las comparaciones de medias fueron analizadas mediante diferencias mínimas significativas (DMS) con un $\alpha < 0,05$. La interacción grupo x ambiente se

analizó mediante el método univariado de índices ambientales a través del coeficiente de regresión (Finlay y Wilkinson, 1963).

Experimentos con aplicación de herbicida

Estos experimentos pretendieron cuantificar el impacto sobre el rendimiento y otros atributos fenotípicos del gen *Igrowth* en diferentes germoplasmas y determinar posible interacción genotipo x ambiente en presencia del herbicida. Para este experimento se utilizaron un grupo de 9 híbridos resistentes (Tabla 2).

Tabla 2. *Híbridos resistentes a imidazolinonas evaluados.*

Híbrido
ADV1250
ADV1350
Exp 1
Exp 3
Exp 9
Exp 10
Exp 11
Exp 12
Exp 13

La siembra de los ensayos tuvo lugar el 5 de noviembre para VT-18, 22 de noviembre en VT-19, 11 de noviembre para AR-19 y 13 de noviembre para GA-19. El diseño experimental fue en parcelas divididas con tres repeticiones, donde el tratamiento herbicida fue la parcela principal y el genotipo la subparcela. Cada parcela tuvo un tamaño de 20,8 m², compuestas de ocho surcos a 0,52 m de espaciamiento y cinco metros de largo. El tratamiento herbicida realizado al estado de cuatro hojas desplegadas consistió en la aplicación con mochila a gas carbónico de imazamox al 3,5% + imazapic al 1,6% (Clearsol plus) a una dosis igual a dos veces la indicada en el marbete (4 lts ha⁻¹ de producto comercial).

Las determinaciones fenotípicas consistieron en estimaciones de biomasa aérea en distintos momentos del ciclo del cultivo. Para ello se realizaron cuatro cortes de 0,5 m² de biomasa total aérea por sub-parcela al momento de aplicación del herbicida, 15 días posteriores a la aplicación de este, al momento de antesis y en madurez fisiológica. Los mismo fueron estimados en VT-18 y en VT-19.

La cosecha de los ensayos se realizó en madurez de cosecha mediante una cosechadora experimental registrando rendimiento, humedad y peso hectolítrico por sub-parcela.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando modelos lineales de efectos mixtos (paquete nlme) en Infostat con su interfaz en R (R Core Team, 2017, versión 3.4.1). Dos tipos de ANOVA fueron planteados de acuerdo a los objetivos. En un primer análisis y para evaluar el impacto del tratamiento Igrowth en diferentes germoplasmas, se ajustó un modelo por ambiente (definido como la combinación de cada localidad x año) y luego para el conjunto de ambientes teniendo en cuenta al efecto híbrido, tratamiento Igrowth y la interacción híbrido x tratamiento como efectos fijos, mientras que el resto de los efectos (repetición, y repetición anidado en ambiente para el análisis conjunto) fueron considerados aleatorios. En un segundo análisis y para evaluar la interacción con el ambiente, los efectos híbrido, tratamiento Igrowth y ambiente, y todas sus interacciones fueron considerados fijos. Los modelos fueron ajustados a través del método REML (Patterson y Thompson, 1975). Las comparaciones de medias fueron analizadas mediante diferencias mínimas significativas (DMS) con un $\alpha < 0,05$. La interacción híbrido x ambiente se analizó mediante el método univariado de índices ambientales a través del coeficiente de regresión (Finlay y Wilkinson, 1963).

RESULTADOS

Experimentos sin aplicación de herbicida

Efecto del carácter *Igrowth* sobre el rendimiento y otras variables fenotípicas

No se detectaron efectos del carácter sobre el rendimiento ($p > 0,05$) en ninguno de los ambientes cuando estos fueron analizados de manera individual (Tabla 3), resultado que también fue confirmado al analizar el conjunto de ambientes (Tabla 3).

Se detectaron diferencias significativas entre grupos de isohíbridos en dos de los cuatro ambientes (VT-18 y VT19), siendo las diferencias comparativamente más importantes en VT-18. En ambos sitios, los grupos 2 y 3 mostraron un rendimiento superior. Similares resultados se observan al analizar el conjunto de ambientes (Tabla 3).

La interacción grupo x carácter fue solamente significativa ($p < 0,05$) en VT-18, donde el carácter *Igrowth* tuvo un efecto negativo sobre el rendimiento para el grupo 2, mientras que no hubo diferencias asociada a la presencia del carácter en los otros grupos de isohíbridos (Tabla 3). Esta interacción no fue significativa en el análisis del conjunto de ambientes.

Tabla 3. Rendimiento (kg ha^{-1}) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (*Igrowth*) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente				Análisis conjunto
		VT-18	VT-19	AR-19	GA-19	
Efectos						
Carácter		ns	ns	ns	ns	ns
Grupo		*** (621)	** (1518)	ns	ns	***(552)
Carácter:Grupo		** (879)	ns	ns	ns	ns
Grupo	Carácter					
1	Sin Carácter	10386 bc	12907	12586	11519	11054
	<i>Igrowth</i>	10537 bc	11155	10058	11831	10959
2	Sin Carácter	12377 a	13170	6053	11845	12578
	<i>Igrowth</i>	11039 b	13027	10962	11716	11573
3	Sin Carácter	10974 b	14800	9781	10747	11626
	<i>Igrowth</i>	11072 b	14261	7331	9991	11544
4	Sin Carácter	10688 bc	12950	10118	12492	11331
	<i>Igrowth</i>	10405 bc	11916	9010	12094	10941
5	Sin Carácter	9855 c	13020	12379	11463	10637
	<i>Igrowth</i>	10402 bc	12691	11125	9002	10825
Grupo						
1		10462 bc	12031 b	11322	11675	11007 c
2		11708 a	13098 ab	8508	11780	12076 a
3		11023 b	14530 a	8556	10369	11585 ab

4	10547 bc	12433 b	9564	12293	11136 bc
5	10128 c	12855 b	11752	10232	10731 c
Caracter					
Sin Carácter	10856	13369	10183	11613	11445
Igrowth	10691	12610	9697	10927	11168

*** $p<0.001$, ** $p<0.05$, * $p<0.1$

Para el resto de las variables fenotípicas estudiadas, la Tabla 4 muestra los resultados del análisis conjunto (el análisis de cada ambiente individual se presenta en el Anexo; Tablas A1 a A5).

Los grupos de isohíbridos estudiados mostraron diferencias significativas para todas estas variables fenotípicas estudiadas ($p<0,01$). El tiempo a antesis varió desde 77 a 87 días, mientras que la variación en duración del llenado fue menor, desde 44 a 51 días (Tabla 4). La altura de planta varió desde 154,1 a 197,8 cm, el número de granos por m^2 de 249040 a 332449 granos m^2 y el peso de mil granos de 23,3 a 35,2 g (Tabla 4). Estas diferencias validan la diversidad de fondo genético usado para evaluar el impacto del caracter Igrowth.

El caracter Igrowth tuvo un efecto significativo ($p<0,05$) sobre las variables floración, altura de planta y peso de 1000 granos (Tabla 4). Los materiales con caracter Igrowth mostraron un atraso de dos días en el tiempo a floración comparado con su contraparte convencional. Asimismo, los materiales Igrowth evidenciaron una reducción en su altura de planta de alrededor de 2 cm comparados con los materiales sin el caracter. Finalmente, los híbridos Igrowth mostraron un leve aumento en su peso de mil granos, aunque este aumento es de reducida magnitud (3,5%; Tabla 4). El caracter Igrowth no tuvo efectos significativos sobre la duración del llenado ($p=0,63$) ni sobre el número de granos por unidad de superficie ($p=0,71$; Tabla 4).

Tabla 4. Tiempo a floración, duración del llenado, altura de planta, número de granos por m^2 (NG), peso de mil granos (P1000) para cada grupo de isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del caracter Igrowth para el análisis del conjunto de ambientes, y medias por grupo y por caracter. En parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza.

		Tiempo a Floración (días)	Duración del llenado (días)	Altura de planta (cm)	NG (#. m^2)	P1000 (g)
Efectos						
Caracter		*** (0,5)	ns	*** (1,5)	ns	*** (0,4)
Grupo		*** (0,5)	*** (1,5)	*** (2,3)	*** (21564)	*** (0,7)
Caracter:Grupo		*** (1)	*** (2)	*** (3,3)	ns	*** (1)
Grupo	Caracter					
1	Conv	85 b	43 e	210,2 a	337869	23,0 f
	Igrowth	89 a	44 e	185,4 d	327029	23,6 f

2	Conv	81 c	44 e	158,5 f	308779	28,2 c
	Igrowth	81 c	44 e	149,8 g	331608	26,9 dc
3	Conv	77 e	46 d	149,9 g	280768	29,9 b
	Igrowth	81 c	48 c	190,4 c	257636	35,1 a
4	Conv	75 g	52 a	190,9 c	251571	35,5 a
	Igrowth	81 c	50 b	191,1 c	246509	35,0 a
5	Conv	78 d	48 c	198,4 b	292889	26,2 e
	Igrowth	76 f	48 c	175,4 e	296368	27,3 cd
Grupo						
1		87 a	44 c	197,8 a	332449 a	23,3 e
2		81 b	44 c	154,1 e	320193 a	27,5 c
3		78 c	47 b	170,1 d	269202 c	32,5 b
4		78 c	51 a	191,0 b	249040 c	35,2 a
5		77 d	48 b	186,9 c	294629 b	26,7 d
	Caracter					
	Conv	79 b	46	181,6 a	294375	28,6 b
	Igrowth	81 a	46	178,4 b	291839	29,6 a

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.05$, * $p < 0.1$, ns: no significativo

Con excepción del número de granos por m^2 , todas las variables mostraron interacción grupo x caracter significativas ($p < 0,01$; Tabla 4). Una representación gráfica de esta interacción se presenta en la Fig. 2. La misma muestra que el cambio en los atributos fenotípicos fue menor en algunos fondos genéticos (grupo 2) y mayor en otros (grupo 3), y que la dirección y magnitud del cambio varió con el fondo genético y atributo en cuestión.

Las diferencias en términos relativos siempre fueron de baja magnitud (Fig. 2). Entre las variables que mostraron mayores diferencias, como tiempo a antesis o la altura de planta, se puede observar que la magnitud de la variable aumentó, se mantuvo o se redujo dependiendo del fondo genético considerado (Fig. 2).

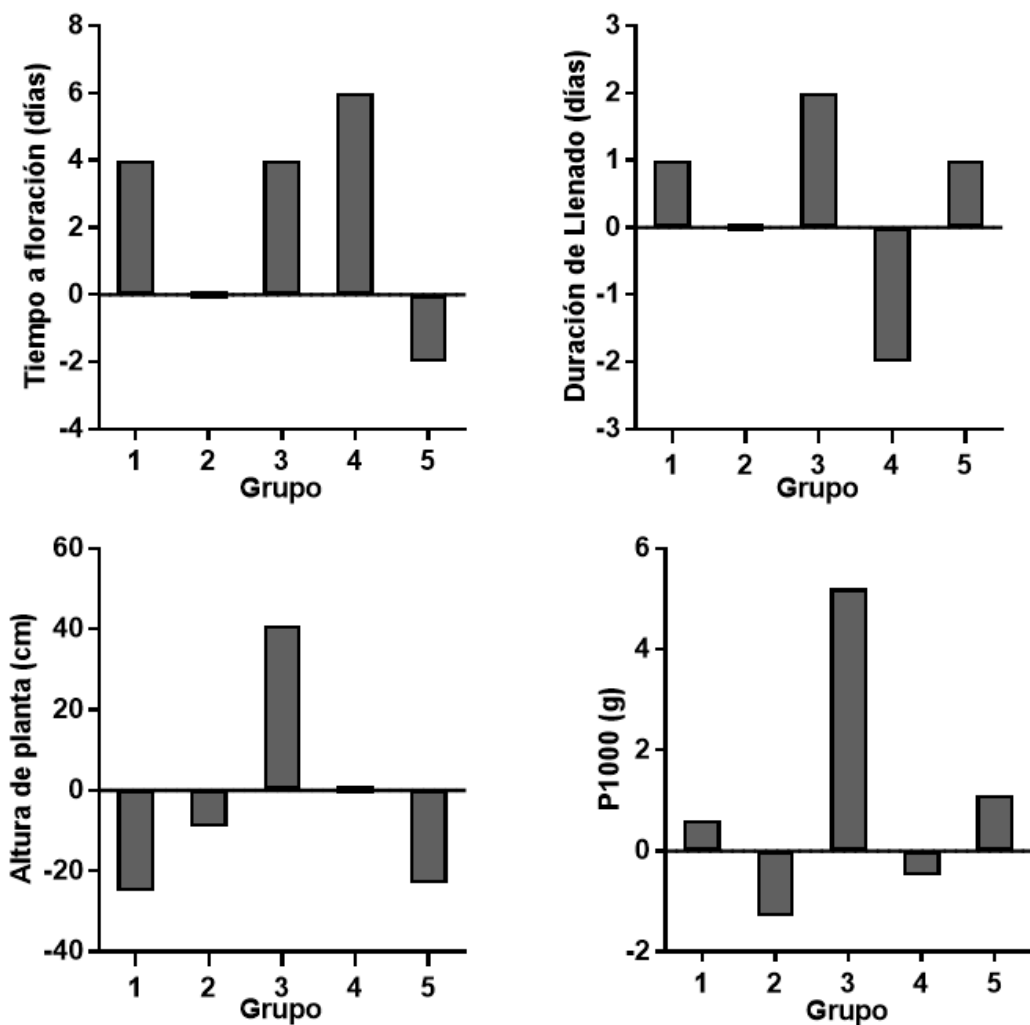


Fig. 2. Diferencia entre el valor del isohíbrido conv y el isohíbrido Igrowth para las variables que evidenciaron interacción grupo x carácter (tiempo a floración, duración del llenado, altura de planta y P1000).

Interacción del carácter Igrowth con el ambiente

Los ambientes explorados fueron significativamente distintos en rendimiento ($p < 0,05$; Tabla 5), variando desde 9949 kg ha^{-1} en AR-19 a 12989 kg ha^{-1} en VT-19. El ambiente sólo mostró interacción con el grupo de isohíbridos, mientras que ninguna de las otras interacciones fue significativa (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de varianza para el análisis conjunto y considerando a los ambientes como efecto fijo.

Efectos	gl	F-valor	p-valor
Carácter	1	3,5	0,0646
Grupo	4	7,12	0,0001
Ambiente	3	30,97	<0,0001

Caracter x Grupo	4	0,96	0,436
Caracter x Ambiente	3	0,72	0,5452
Grupo x Ambiente	12	2,84	0,0024
Caracter x Grupo x Ambiente	12	1,55	0,1225

La interacción grupo x ambiente se ve reflejada en la Fig. 3, donde los grupos de isohíbridos 3 y 2 evidenciaron mayor adaptabilidad a mejoras en la calidad del ambiente medido a partir del índice ambiental, mientras que los grupos 1 y 5 mostraron mayor estabilidad (Fig. 3). El grupo 4 mostró un comportamiento promedio.

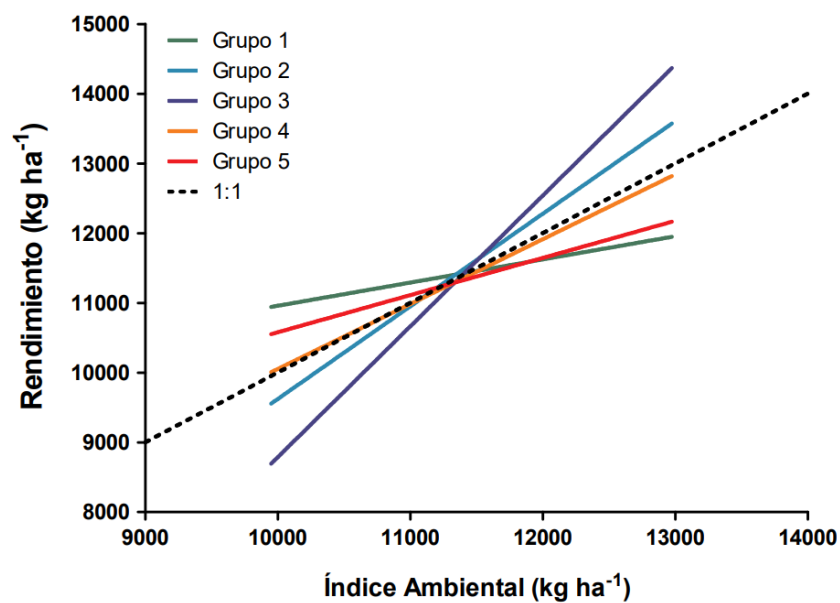


Fig. 3. Rendimiento en función del índice ambiental para cada grupo de isohíbridos,

La ausencia de interacción carácter x grupo x ambiente sobre el rendimiento ($p > 0,05$) se evidencia en la Fig. 4. Cabe destacar los grupos 2 y 3, como los de mayor adaptabilidad. Sin embargo, la misma no llega a ser significativa. Sí se observa la tendencia negativa sobre el rendimiento ($p < 0,10$) debido al carácter Igrowth, independiente del isohíbrido considerado (Fig. 4).

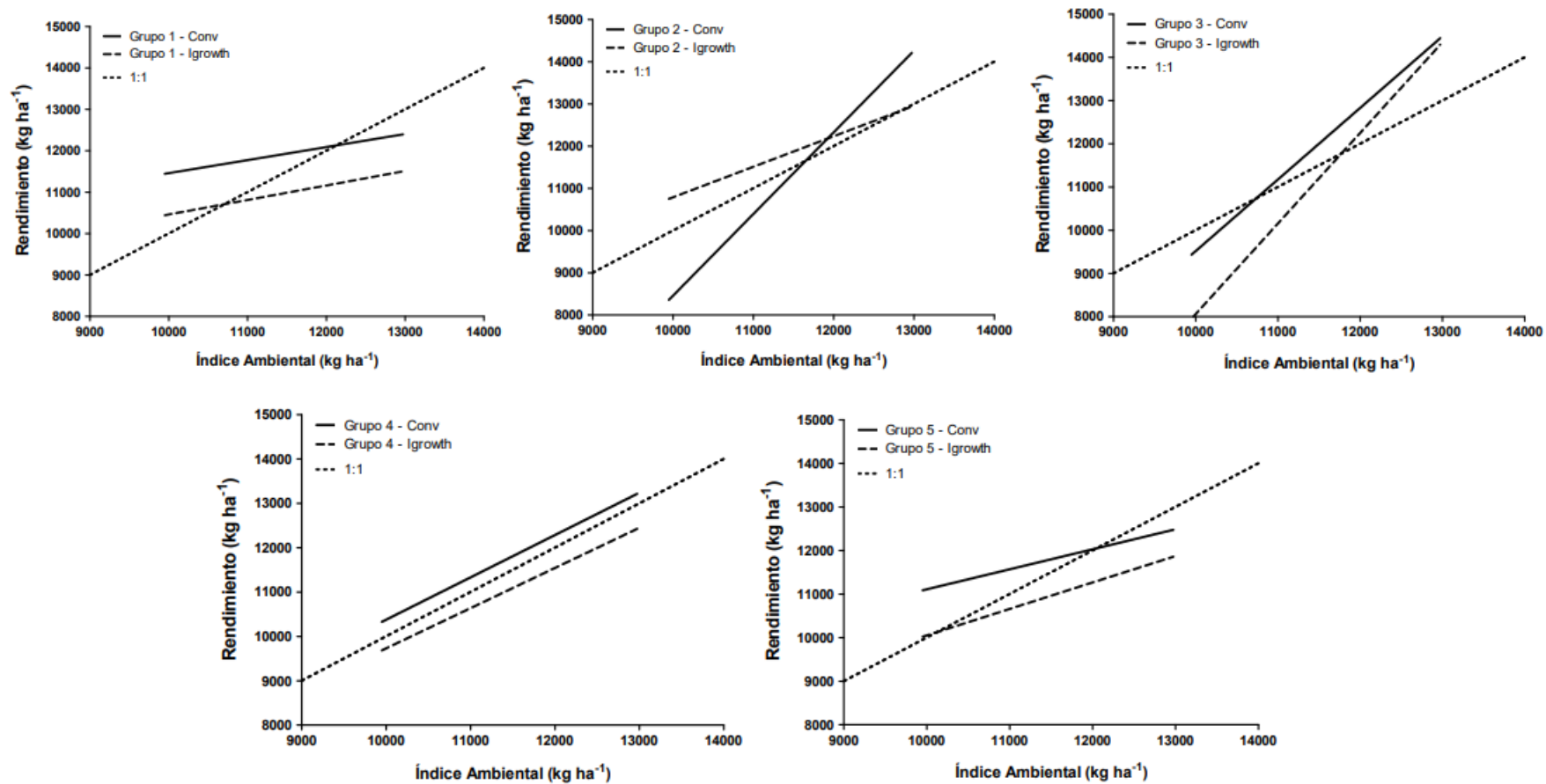


Fig. 4. Rendimiento en función del índice ambiente para cada grupo de isohíbridos discriminando entre convencional (Conv) e Igrowth,

Para el resto de las variables fenotípicas estudiadas, las interacciones caracter x ambiente y caracter x grupo x ambiente explicaron entre un 2,3% (P1000) y un 13,5% (duración del llenado) de la variabilidad del atributo. De ambas interacciones, la triple interacción fue más importante en términos de variación explicada, lo que indica que el efecto del caracter Igrowth dependió no sólo del ambiente sino también del fondo genético considerado.

Tabla 6. Resultado del análisis de varianza para todas las variables en el análisis conjunto y considerando a los ambientes como efecto fijo. NG indica el número de granos por unidad de superficie; P1000 indica el peso de mil granos.

Efectos	Días a floración	Duración del llenado	Altura de planta	NG	P1000
	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Caracter	***(0,5)	***(1,4)	***(3,8)	ns (0,1)	** (0,2)
Grupo	***(59,4)	***(39,4)	***(40,5)	***(19,1)	***(60)
Ambiente	***(24,4)	***(29,1)	***(2,2)	***(22,9)	***(21,6)
Caracter x Grupo	***(2,2)	***(4,7)	***(38,9)	***(7,1)	***(8,1)
Caracter x Ambiente	***(1,5)	***(3,6)	***(1)	ns (1,2)	ns (0,2)
Grupo x Ambiente	***(3,1)	***(5,7)	***(4,3)	***(12,5)	***(2,3)
Caracter x Grupo x Ambiente	***(7)	***(9,9)	***(6,5)	ns (8,5)	** (2,1)

*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns: no significativo.

Entre paréntesis, el porcentaje sobre la suma total de cuadrados (no se muestra el residual del modelo).

La triple interacción caracter x grupo x ambiente significativa para cada atributo se representa en la Fig. 5, donde es evidente el alto impacto del grupo en todas las variables estudiadas, explicando hasta un 60% de la variabilidad en un atributo (Tabla 6). También se puede apreciar el efecto del ambiente, mayormente en algunas variables como la fenología. Una reducción en el índice ambiental tiende a dilatar el tiempo a anthesis, mientras que una mejora tiende a aumentar la duración del llenado (Fig. 5). Se observaron materiales con el caracter Igrowth que tienden a comportarse iguales a su contraparte convencional casi independiente del ambiente (ejemplo, los grupos 1 y 4 para la mayoría de las variables), y materiales donde el impacto del caracter Igrowth se modificó con el ambiente (ejemplo, los grupos 2 y 3). La alta interacción grupo x caracter fue evidente para la altura de planta, donde el atributo Igrowth aumentó o redujo la altura dependiendo del fondo genético considerado (Fig. 5).

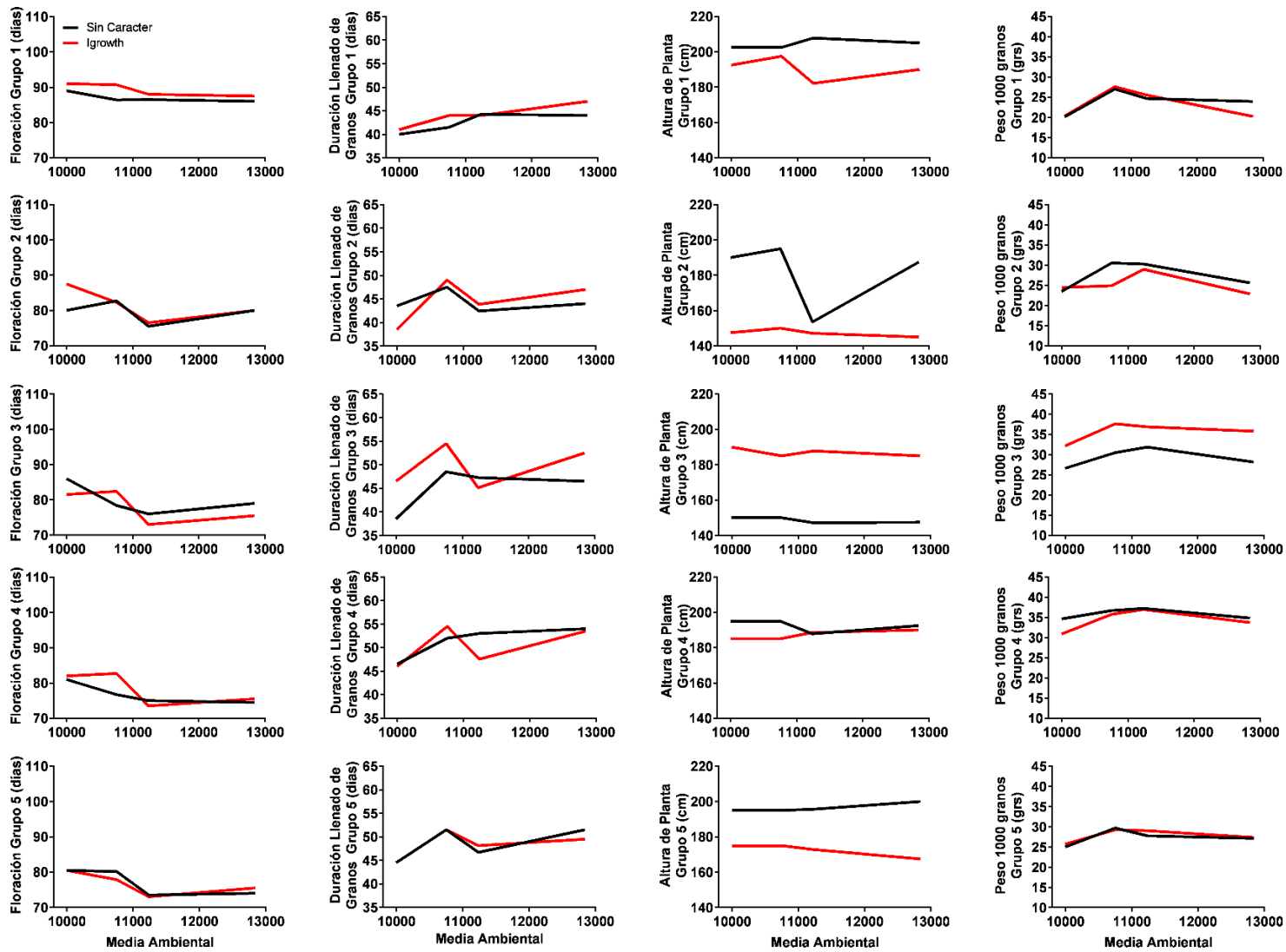


Fig. 5. Comportamiento de tiempo a floración, duración del llenado, altura de planta y peso de mil granos (P1000) en función del índice ambiental para cada grupo de isohíbrido discriminado entre convencional (Conv) e Igrowth.

Experimentos con aplicación de herbicida

Efectos sobre el rendimiento en grano y la biomasa aérea

El tratamiento de aplicación del herbicida no mostró efectos significativos sobre el rendimiento ($p > 0,05$) en ninguno de los ambientes evaluados cuando estos fueron analizados de manera individual, resultado que también fue confirmado en el análisis del conjunto de ambientes (Tabla 7).

Se detectaron diferencias significativas en rendimiento entre los híbridos evaluados para cada ambiente individual ($p < 0,01$), confirmándose este comportamiento en el análisis conjunto (Tabla 7).

La interacción híbrido x tratamiento no mostró efectos significativos en ninguno de los ambientes evaluados ni en el análisis del conjunto de ambientes (Tabla 7).

Tabla 7. Rendimiento (kg ha^{-1}) de cada híbrido en ausencia (No aplicado) y presencia (Aplicado) del tratamiento herbicida, para cada ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por híbrido y por tratamiento. En parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente				Análisis conjunto
		VT-18	VT-19	AR-19	GA-19	
Efectos						
Híbrido		*** (1681)	*** (1208)	*** (752)	*** (973)	*** (592)
Tratamiento		ns	ns	ns	ns	ns
Híbrido:Tratamiento		ns	ns	ns	ns	ns
Híbrido	Tratamiento					
ADV1250	No Aplicado	10324	11857	14141	11056	11864
	Aplicado	9925	12933	14444	11364	12144
ADV1350	No Aplicado	7799	12406	13642	12010	11571
	Aplicado	9380	13509	13989	12425	12307
Exp. 1	No Aplicado	7968	10237	12708	10379	10452
	Aplicado	7977	10874	13150	9800	10515
Exp. 3	No Aplicado	-	12458	12354	12226	12035
	Aplicado	-	13332	12077	11525	12379
Exp. 9	No Aplicado	9922	11973	13378	11498	11657
	Aplicado	10152	12745	13194	11193	11527
Exp. 10	No Aplicado	10758	12148	13989	12013	12462
	Aplicado	10218	12723	15062	11484	12754
Exp. 11	No Aplicado	10682	11897	15142	11614	13118
	Aplicado	10216	13778	15283	11823	12611
Exp. 12	No Aplicado	10676	14278	15529	12176	12122
	Aplicado	9834	13440	15089	11737	12091
Exp. 13	No Aplicado	8190	12983	12964	12324	11336

	Aplicado	8365	12814	14418	11337	11335
Híbrido						
ADV1250		10124 a	12395 b	14292 cd	11210 b	12004 c
ADV1350		8589 b	12958 ab	13815 cde	12217 a	11939 c
Exp. 1		7972 b	10556 c	12929 fg	10089 c	10483 e
Exp. 3		-	12895 ab	12215 g	11875 ab	12207 bc
Exp. 9		10037 a	12359 b	13286 ef	11346 ab	11592 cd
Exp. 10		10488 a	12436 b	14526 bc	11748 ab	12608 ab
Exp. 11		10449 a	12838 ab	15212 ab	11718 ab	12864 a
Exp. 12		10255 a	13859 a	15309 a	11957 ab	12106 bc
Exp. 13		8277 b	12899 ab	13691 dc	11830 ab	11336 d
Tratamiento						
No Aplicado		9540	12249	13760	11700	11846
Aplicado		9508	12905	14078	11409	11963

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo, - dato faltante por pérdida durante cosecha

El tratamiento de aplicación de herbicida no tuvo efectos significativos sobre la biomasa aérea final acumulada en madurez fisiológica ($p > 0,05$) (Tabla 8). Para esta variable se detectaron diferencias significativas entre híbridos ($p < 0,001$) e interacción híbrido x tratamiento ($p < 0,05$) en cada ambiente analizado de manera individual y en el conjunto de ambientes (Tabla 8).

Un mayor detalle de esta interacción muestra que solo para un material (ADV1350) este efecto fue consistente en ambos ambientes. El tratamiento de aplicación de herbicida resultó en un aumento en biomasa final acumulada (de 114% y 9,6% en VT-18 y VT-19, respectivamente; Tabla 8). Otro material que mostró similar efecto fue el ADV1250, donde el tratamiento con herbicida resultó en un aumento en la biomasa acumulada (17,5%) en el ambiente VT-19 (Tabla 8). Por otro lado, el Exp. 11 fue el único material donde el tratamiento de aplicación de herbicida mostró un impacto negativo en la biomasa final (28%; Tabla 8). Del análisis de ambos ambientes se concluye que la aplicación del herbicida tuvo un efecto positivo en la biomasa final en el híbrido ADV1350, mientras que hubo diferencias entre tratamientos para el resto de los híbridos evaluados.

Tabla 8. Biomasa aérea en madurez fisiológica ($gr. m^{-2}$) para cada híbrido en ausencia (No aplicado) y presencia (Aplicado) del tratamiento herbicida, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por híbrido y por tratamiento. En parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

	Ambiente		
	VT-18	VT-19	Análisis conjunto
Efectos			
Híbrido	*** (809)	*** (442)	*** (422)
Tratamiento	ns	ns	ns
Híbrido:Tratamiento	*** (1123)	* (614)	** (593)

Híbrido	Tratamiento			
ADV1250	No Aplicado	3785 bc	4257 f	3641 f
	Aplicado	3208 bcd	5002 cde	4215 bcdef
ADV1350	No Aplicado	2485 de	4705 cef	3862 ef
	Aplicado	5340 a	5157 bcd	4626 abcd
Exp. 1	No Aplicado	4313 ab	5932 a	5167 a
	Aplicado	3990 bc	5509 abc	4758 abc
Exp. 3	No Aplicado	2030 e	5646 ab	4622 abcd
	Aplicado	1903 e	5272 bcd	4280 bcde
Exp. 9	No Aplicado	3194 bcd	4958 cde	4175 cdef
	Aplicado	3853 cd	4921 cde	4228 bcdef
Exp. 10	No Aplicado	4294 ab	5262 bcd	4582 abcd
	Aplicado	3902 bc	4924 cde	4237 bcde
Exp. 11	No Aplicado	4028 bc	4527 ef	3908 ef
	Aplicado	2885 cde	5007 cde	4177 cdef
Exp. 12	No Aplicado	4194 b	4731 ef	4107 def
	Aplicado	3261 bcd	4824 def	4067 def
Exp. 13	No Aplicado	3300 bcd	4996 cde	4221 bcdef
	Aplicado	3980 bc	5541 abc	4783 ab
<hr/>				
Híbrido				
ADV1250		3496 a	4630 e	3928 d
ADV1350		3912 a	4931 cde	4244 bcd
Exp. 1		4152 a	5720 a	4962 a
Exp. 3		1967 b	5459 ab	4451 bc
Exp. 9		3524 a	4940 cde	4202 bcd
Exp. 10		4098 a	5093 bcd	4409 bc
Exp. 11		3457 a	4767 de	4042 cd
Exp. 12		3728 a	4777 de	4087 bcd
Exp. 13		3640 a	5268 bc	4502 b
	Tratamiento			
	Aplicado	3591	5129	4375
	No Aplicado	3514	5002	4254

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

La Fig. 6 muestra la evolución de la biomasa para el ambiente VT-18 (VT-19 se muestra en el Anexo), donde se observa que para el material ADV1350 el efecto sobre la biomasa fue más evidente en etapas avanzadas del ciclo y no de manera inmediata a la aplicación del herbicida. Para el resto de los híbridos, las diferencias entre tratamientos fueron reducidas a nulas (Fig. 6).

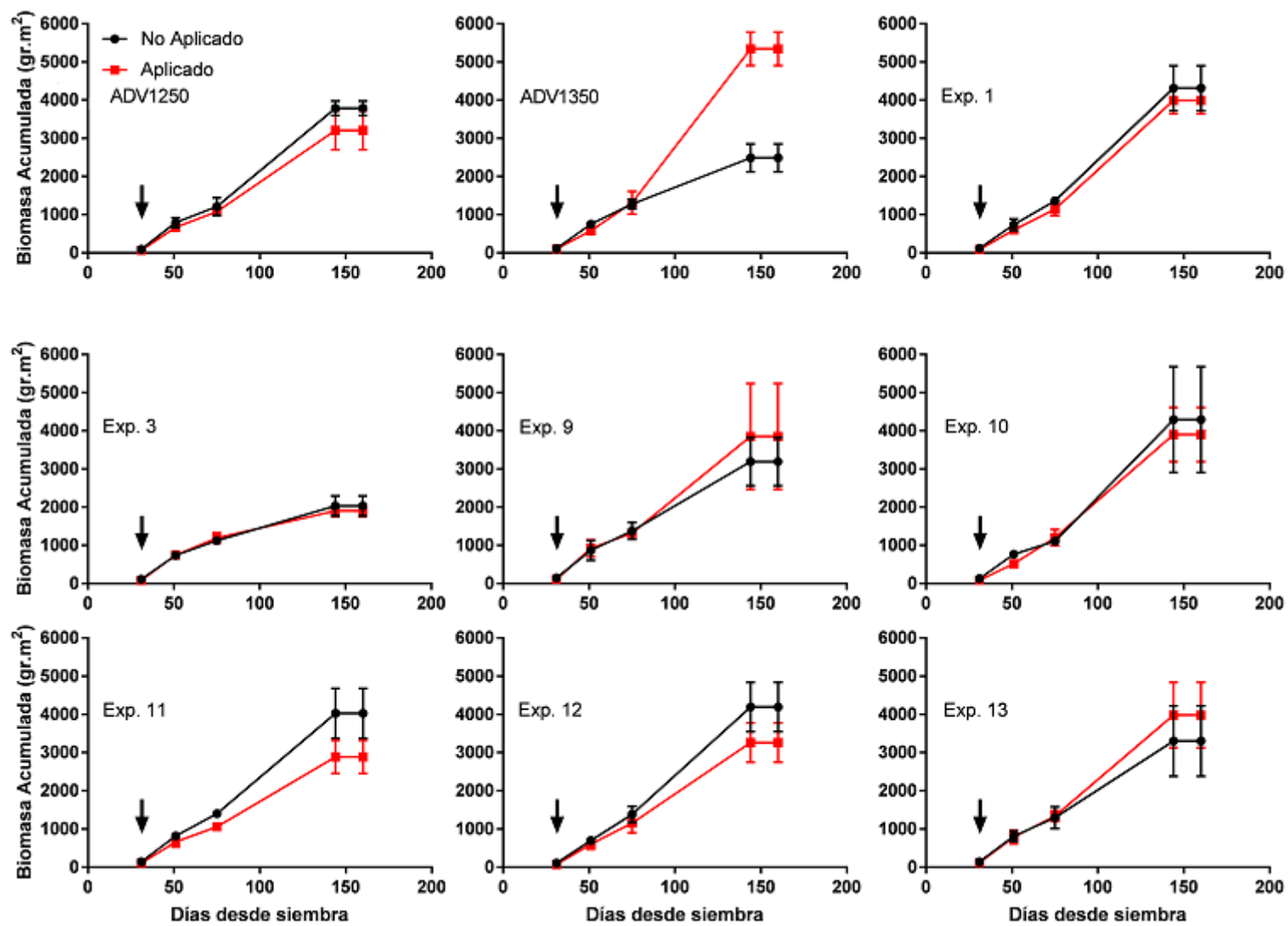


Fig. 6, Biomasa acumulada para cada híbrido y tratamiento en el ambiente VT-18.

Interacción del carácter *I_{growth}* con el ambiente

Los ambientes explorados fueron significativamente diferentes ($p < 0,01$), mostrando variaciones desde 9524 kg ha⁻¹ en VT-18 hasta 13920 kg ha⁻¹ en AR-19. La interacción híbrido por ambiente tomó valores significativos ($p < 0,05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de varianza para el análisis conjunto considerando a los ambientes como efecto fijo.

Efectos	gl	F-valor	p-valor
Híbrido	8	20.4	<0.0001
Tratamiento	1	1.15	0.2851
Ambiente	3	263.6	<0.0001
Híbrido x Ambiente	24	12.83	<0.0001
Tratamiento x Ambiente	3	2.36	0.074
Híbrido x Tratamiento	8	0.87	0.5414
Híbrido x Tratamiento x Ambiente	24	0.57	0.9464

La Fig. 7 muestra la interacción híbrido x ambiente, donde ADV1350, Exp. 11, Exp. 12 y Exp. 13 se mostraron con gran adaptabilidad, mejorando sus rendimientos antes mejoras ambientales, en cambio Exp.3 y Exp. 9 y Exp. 10 mostraron mayor estabilidad frente a cambios ambientales. Por último, ADV1250 mostro un comportamiento promedio mientras que Exp.1 evidencio rendimientos inferiores a la media ambiental a través de los ambientes (Fig. 7).

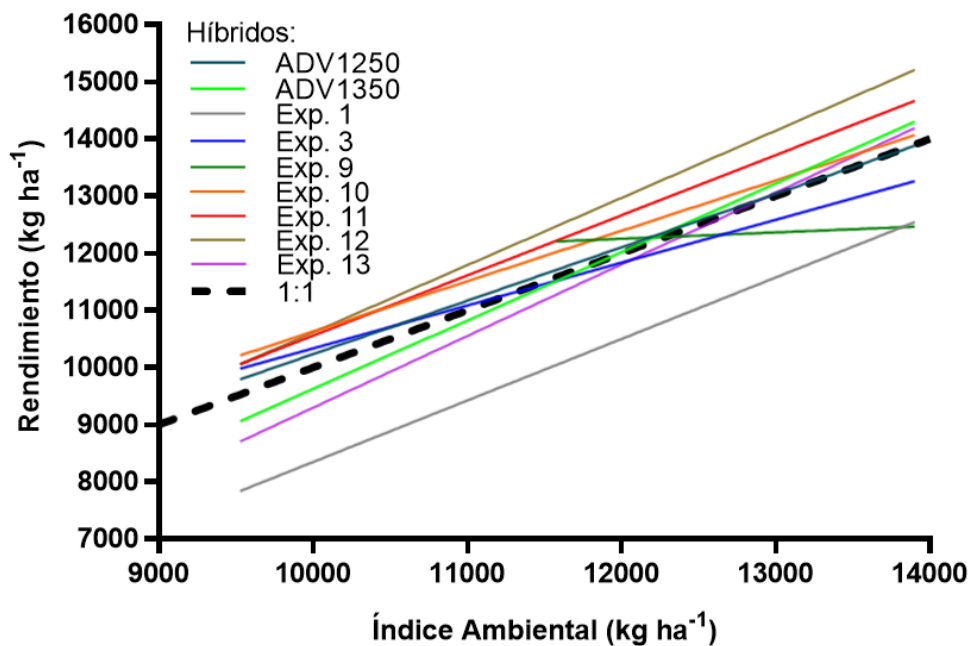


Fig. 7, Rendimiento en función del índice ambiental para cada híbrido.

DISCUSIÓN GENERAL

El sorgo es uno de los cultivos que menor aporte tecnológico ha tenido en los últimos tiempos (Parra *et al.*, 2020; Brihet y Gayo, 2016). Se lo ha destinado a suelo someros o pobres, con escasa a nula fertilización y el control de malezas, plagas y enfermedades ha sido muy deficiente, generando importantes mermas de productividad. Los herbicidas son actualmente la herramienta más poderosa y efectiva para el control de las malezas en los cultivos (Sabbatini *et al.*, 2004). El control químico de latifoliadas en sorgo se realiza mediante herbicidas de pre- o pos-emergencia, mientras que el control de gramíneas ha sido completamente dependiente de herbicidas de pre-emergencia (Pandian *et al.*, 2021). La tecnología Igrowth, desarrollada por la empresa Advanta Semillas y la cual otorga resistencia a la familia química de las imidazolinonas, amplía el grupo de herbicidas posibles de utilizar en el cultivo.

La resistencia a los herbicidas frecuentemente implica un costo de adaptación (Vila-Aiub *et al.*, 2009). El propósito de la presente tesis fue evaluar el costo o impacto productivo de la introgresión del gen Igrowth en diferentes fondos genéticos de sorgo, estudiando los efectos sobre el rendimiento y otros atributos fenotípicos en un rango de ambientes productivos, con la presencia o ausencia de la aplicación del herbicida.

Los experimentos sin aplicación del herbicida pretendieron comparar el efecto del carácter sobre el rendimiento y otros atributos de interés en diferentes isohíbridos. Los grupos de isohíbridos demostraron ser contrastantes entre sí, ya que se detectaron diferencias significativas entre grupos para todas las variables estudiadas. Esto confirma la premisa inicial de trabajar sobre fondos genéticos diferentes y poder descartar así posibles asociaciones entre el carácter y el fondo genético usado.

La introgresión del carácter sobre los diferentes fondos genéticos evaluados no ha mostrado efectos significativos sobre el rendimiento en grano respecto a sus isohíbridos convencionales, en un rango ambiental de buena productividad (9949 a 12989 kg.ha⁻¹). Los híbridos Igrowth obtuvieron rendimientos similares a su contraparte convencional. Estos resultados en sorgo contrastan con trabajos en otros cultivos como girasol, donde los materiales resistentes a las imidazolinonas (conocidos bajo el nombre Imisun) resultaron en mermas de rendimientos en grano y contenido de aceite (Weston *et al.*, 2012). Otro ejemplo es el cultivo de arroz, donde los materiales resistentes a las imidazolinonas de primera generación rindieron alrededor de un 11% menos que los cultivares convencionales líderes. Las causas de este efecto negativo han sido atribuidas al uso de materiales extremadamente cortos y de bajo potencial de rendimiento, brecha que luego se redujo con el lanzamiento de nuevos cultivares (Sha *et al.*, 2007). En el caso de sorgo, los resultados de la presente tesis

confirman la ausencia de un efecto negativo del carácter Igrowth sobre el rendimiento como consecuencia del uso de germoplasma elite para la mutación.

La fenología del cultivo, principalmente los días a floración, la altura de planta y el peso de mil granos fueron significativamente afectados por el carácter Igrowth, aunque la magnitud del efecto fue siempre reducida. Esto es diferente a lo observado en girasol, donde no se encontraron diferencias en fenología y altura entre girasoles resistentes a imidazolinonas o sulfonilureas y sus isohíbridos convencionales bajo diferentes situaciones productivas (Sala *et al.*, 2012). Tampoco se encontraron diferencias en el peso de mil granos entre isohíbridos de girasol convencionales y CLPlus (Weston, 2012).

La dirección y magnitud del efecto de la introgresión del carácter Igrowth sobre la fenología, altura y peso de mil granos dependió del fondo genético considerado. Sin embargo, fueron de muy reducida magnitud para ser importantes desde el punto de vista agronómico en los casos estudiados (ejemplo, 2 días de diferencia en el tiempo a antesis). Durante el proceso de conversión de líneas parentales, conocido como retrocruza, muchas veces se sufren desviaciones debidas al azar o vinculadas a los genes cercanos al gen objetivo (Ribaut y Hoisington, 1998). La técnica tiene como principales limitaciones la cantidad de generaciones de retrocruzas necesarias y la transferencia simultánea de otros genes asociados al gen de interés (Semagn *et al.*, 2006). Los marcadores moleculares son una herramienta precisa y efectiva que ayudan a la obtención de isolíneas, sin embargo su efectividad en el proceso dependen de varios factores, como el tamaño de la población de retrocruza, la distancia de los marcadores al gen objetivo y de la cantidad de marcadores utilizados (Hasan *et al.*, 2015). Es probable que la existencia de genes ligados al gen de interés y que son transportados desde el parental donador hacia el recurrente expliquen la interacción observada entre el carácter Igrowth y el fondo genético.

La interacción del carácter Igrowth con el ambiente no fue significativa, lo que sugiere que el carácter no tiene impacto en ningún ambiente productivo. Sin embargo, cabe mencionar que en esta tesis se exploró un rango productivo de alta calidad (rendimientos desde 9949 a 12989 kg ha⁻¹) por lo que el impacto del carácter Igrowth debería ser testeado en un mayor rango ambiental, sobre todo en ambientes menos productivos. Este aspecto es relevante ya que el sorgo se destina principalmente a este tipo de ambientes por sus características de cultivo resistente a diversidad de estreses (Doggett, 1988; Camargo y Hubbard, 1999).

La ausencia de una interacción entre el carácter Igrowth con el ambiente para rendimiento se da incluso en presencia de una interesante interacción grupo x ambiente, lo que soporta la ausencia de un efecto del carácter Igrowth. Se detectaron grupos de isohíbridos con adaptación específica y/o mayor adaptación como los grupos 2 y 3, y otros de adaptación

amplia y/o mayor estabilidad como los grupos 1 y 5. Estas diferencias entre híbridos podrían ser considerados a la hora de emprender mejoras genéticas dependiendo los objetivos a lograr.

Los experimentos con aplicación de herbicida pretendieron evaluar el impacto sobre el crecimiento y el rendimiento de la introgresión del carácter Igrowth en diferentes germoplasmas y determinar posibles interacciones genotipo x ambiente en presencia del herbicida. Los híbridos evaluados fueron diferentes entre sí, lo cual confirma el cumplimiento inicial de evaluar la aplicación herbicida sobre diferentes fondos genéticos. De esta manera, podemos discriminar diferentes efectos de la aplicación asociados a determinados fondos genéticos.

Los nueve híbridos resistentes a las imidazolinonas no manifestaron diferencias en rendimiento entre los tratamientos sin y con aplicación del herbicida en ninguno de los ambientes evaluados (rango ambiental de 9524 a 13920 kg ha⁻¹). Este aspecto es muy importante para afirmar que la aplicación del herbicida comercial Clearsol Plus (imazamox al 3,5% + imazapic al 1,6%) en el estado de 4 a 5 hojas completamente desarrolladas sobre híbridos Igrowth es segura, y no genera ningún tipo de merma o penalidad de rendimiento en grano. La aplicación de este herbicida en pos-emergencia es muy común en lotes con presencia de malezas emergidas, pero también podría ser aplicada como pre-emergente por su residualidad (Cassino *et al.*, 2017). El uso de este herbicida como pre-emergente es una línea de investigación futura que ampliaría el espectro de uso y aportaría versatilidad al productor frente al manejo malezas en sorgo.

A diferencia de lo encontrado en girasoles resistentes, donde se observó clorosis y reducción del área foliar luego de la aplicación de imidazolinonas (Ochogavía *et al.*, 2014), el crecimiento analizado como la evolución de la biomasa no fue afectado de manera negativa por la aplicación del herbicida en sorgo. La biomasa a madurez fue diferente significativamente entre el tratamiento aplicado y no aplicado en tres de los nueve híbridos evaluados, pero el efecto sólo fue consistente en los dos ambientes testeados para un híbrido (ADV1350) y, a diferencia de lo esperado, la aplicación del herbicida tuvo un efecto positivo sobre la biomasa final acumulada. Son necesarios mayores estudios para evaluar el impacto del herbicida en este y otros atributos de crecimiento, ya que los resultados de esta tesis en este sentido están basados en un limitado número de ambientes.

La información generada en el presente trabajo es potencialmente útil para emprender mejoras genéticas a partir de mutaciones inducidas, las cuales han jugado un papel muy importante en el mejoramiento vegetal (Suprasanna, *et al.*, 2015). La utilización de germoplasma elite sobre el cual inducir la mutación es fundamental para evitar mermas

productivas debido a la introgresión de genes desfavorables que se heredaran junto a los genes deseados (Trucillo Silva *et al.*, 2010).

Líneas de investigación futuras

- Evaluar el comportamiento de la tecnología Igrowth en ambientes de baja productividad.
- Evaluar la presencia o ausencia de efectos de aplicación herbicida en momentos de pre-emergencia.
- Evaluar la presencia o ausencia de efectos fenotípicos pos-aplicación en aplicaciones realizadas al estado de V4 a V6 sobre sorgos Igrowth.

CONCLUSIONES

Estos resultados permiten concluir que la mutación que otorga resistencia al grupo químico imidazolinonas es segura para la producción de híbridos comerciales. Las características productivas como rendimiento en grano y biomasa aérea, no exhibe penalidad asociada a la introgresión del carácter resistencia. El efecto herbicida no genera mermas productivas ni alteraciones fenotípicas importantes que puedan llegar a afectar la comercialización de estos productos.

Hoy en día, la producción de cultivos extensivos se ve afectada por la gran presión de malezas existentes, con lo cual la aplicación herbicida representa la principal herramienta para el control de estas. La tecnología Igrowth llega para suplir esta necesidad y se ha convertido en uno de los principales aspectos a tener presente en la selección de híbridos de sorgo a sembrar.

BIBLIOGRAFIA

- Abit, M., J. M., y Al-Khatib, K. 2013. Metabolism of quizalofop and rimsulfuron in herbicide resistant grain sorghum. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 105:24-27.
- Al-Khatib, K., Baumgartner, J.R., Peterson, D.E., Currie, R.S. 1998. Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). *Weed Science*, 46:403–407.
- Al-Khayri, J. M., Jain, S. M., y Johnson, D. V. 2015. Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools. *Springer International Publishing*, 1:139-142.
- Barberis, N., Sánchez, C. 2013. Informe de cultivo de sorgo: evolución y perspectivas. Un análisis de las estadísticas, julio 2013. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_informe_de_cultivo_de_sorgo_evolucion_y_perspecti.pdf
- Brihet, JM. 2017. Relevamiento de tecnologías agrícolas aplicadas (Retaa) –Informe anual n° 4 - Campaña gruesa 2016/2017. <https://www.bolsadecereales.com/tecnologia-informes>
- Brihet, J. M., y Gayo S. 2016a. Análisis de los cambios tecnológicos ocurridos en trigo y cebada en Argentina. Revista Acopiadores ‘Volvamos al grano: Volvamos al trigo’. Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales. Mar del Plata, mayo.
- Brihet, J. y Gayo, S. 2016b. Análisis regional y adaptación de tecnologías. Departamento de Investigación y Prospectiva. Bolsa de Cereales. http://www.bolsadecereales.com/imagenes/retaa/2016-08/2016/Simposio_Sorgo_AIANBA_ReTAA_BC_24_08_16.pdf.
- Bolsa de cereales. 2021. Relevamiento de Tecnología Agrícola Aplicada de la Bolsa de Cereales.
- Camargo, M.B.P., Hubbard, K.G. 1999. Drought sensitivity indices for sorghum crop. *Journal of Production Agriculture*, 12:312–316.
- Cassino, N., Bedmar, F., Monterubbianesi, G., y Gianelli, V. 2017. Efectos residuales de Imazamox sobre cultivos de invierno y de verano en Argentina. *Ciencias Agronómicas*, 23-29.
- Carrasco, N., Zamora, M., S., Melin, A. 2011. Manual de sorgo (No. 633.174). *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina)* pp.41-44.
- Darmency, H. 2013. Pleiotropic effects of herbicide - resistance genes on crop yield: a review. *Pest management science* 69:897-904.
- Délye, C., Zhang, X. Q., Michel, S., Matějček, A., y Powles, S. B. 2005. Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass. *Plant physiology*, 137:794-806.
- Délye, C., Jasieniuk, M., Le Corre, V. 2013. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics*, 29:649–658.

Dogget H. 1988. Sorghum. Published by Halow: 2nd edition. Longman Scientific and Technical Tropical Agriculture Series. International Development Research Centre, Canada.

Finlay, K. W., y Wilkinson, G. N. 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Australian journal of agricultural research*, 14:742-754.

Hasan, M. M., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Mahmood, M., Rahim, H. A., Alam, M. A., Ashkani, S., Malek, A., y Latif, M. A. 2015. Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29:237-254.

Kershner, K. S. 2010. Herbicide resistance in grain sorghum. Doctoral dissertation, Kansas State University.

Knezevic, S. Z. 2007. Herbicide tolerant crops: 10 years later. *Maydica*, 52:245-250.

Neve, P., Diggle, A. J., Smith, F. P., y Powles, S. B. 2003. Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum* I: population biology of a rare resistance trait. *Weed Research*, 43:404-417.

Ochogavía, A. C., Gil, M., Picardi, L., y Nestares, G. 2014. Precision phenotyping of imidazolinone-induced chlorosis in sunflower. *Breeding science*, 64:416-421.

Pandian, B. A., Sexton-Bowser, S., Prasad, P. V., y Jugulam, M. 2021. Current status and prospects of herbicide-resistant grain sorghum (*Sorghum bicolor*). *Pest Management Science*.

Parra, G., Borrás, L., Gambin, B. L. 2020. Maize long-term genetic progress explains current dominance over sorghum in Argentina. *European Journal of Agronomy*, 119:126122.

Patterson, H.D., y Thompson, R. 1975. Maximum likelihood estimation of components of variance. In Proc. of the 8th. *International Biometrics Conference*, 197:207.

Pérez, A., Saucedo, O., Iglesias, J., Wencomo, H. B., Reyes, F., Oquendo, G., Milián, I. 2010. Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Pastos y Forrajes*, 33:1-1.

Purrington, C. B., y Bergelson, J. 1999. Exploring the physiological basis of costs of herbicide resistance in *Arabidopsis thaliana*. *The American Naturalist*, 154:82-91.

R Core Team, 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Ray, T. B. 1984. Site of action of chlorsulfuron: inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant physiology*, 75:827-831.

Ribaut JM, Hoisington D. 1998. Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends in Plant Science*, 3:236-239.

Sabbatini, M., Irigoyen, J., Vernavá, M. 2004. Estrategias para el manejo integrado de malezas: problemática, resistencia a herbicidas y aportes de la biotecnología. INTA. En:

Bioteconología y mejoramiento genético vegetal, (eds. V. Echenique, C. Rubinstein & L. Mroginski), pp. 343-354. Ediciones INTA, Buenos Aires.

Sala, C.A., Bulos, M., Altieri, E., Ramos, M.L. 2012. Genetics and breeding of herbicide tolerance in sunflower. *Helia*, 35:57-70.

Salzmann, D., Handley, R. J., y Müller-Schärer, H. 2008. Functional significance of triazine-herbicide resistance in defence of *Senecio vulgaris* against a rust fungus. *Basic and Applied Ecology*, 9:577-587.

Semagn, K., Bjørnstad, Å., y Ndjioudjop, M. N. 2006. Progress and prospects of marker assisted backcrossing as a tool in crop breeding programs. *African Journal of Biotechnology*, 5:2588-2603.

Sha, X. Y., Linscombe, S. D., y Groth, D. E. 2007. Field evaluation of imidazolinone-tolerant Clearfield rice (*Oryza sativa* L.) at nine Louisiana locations. *Crop Science*, 47:1177-1185.

Shaner, D.L., Anderson P.C y Stidham, M. A. 1984. Imidazolinones: Potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiology*, 76:545–546.

Shaner, D. L., Singh, B. K., Roe, R. M., Burton, J. D., y Kuhr, R. J. 1997. Acetohydroxyacid synthase inhibitors. *Reviews in Toxicology*, 1:69-110.

Sherman, T. D., Vaughn, K. C., y Duke, S. O. 2018. Mechanisms of action and resistance to herbicides. *Herbicide-resistant crops*, pp. 13-35.

Singh, B.K. 1999. Biosynthesis of valine, leucine, and isoleucine. *Plant amino acids*. Pp.227-247.

Subramanian, M.V. y Gerwick, B.C. 1989. Inhibition of acetolactate synthase by triazolopyrimidines: a review of recent developments. En: J.R. Whitaker, P.E. Sonnet, eds. Biocatalysis in agricultural biotechnology. American Chemical Society, Washington, DC.277-288.

Subramanian, M.V., Hung, H.Y., Dias, J. M., Miner, V.W., Butler, J.H. y Jachetta, J.J. 1990. Properties of mutant acetolactate synthases resistant to triazolopyrimidine sulfonilide. *Plant Physiology*, 94:239–244.

Suprasanna, P., Mirajkar, S. J., y Bhagwat, S. G. 2015. Induced mutations and crop improvement. *Plant biology and biotechnology*, pp. 593-617.

Tan, S., Evans, R., Dahmer, M., Singh, B. y Shaner, D. 2005. Imidazolinone-tolerant crops: future, current status and future. *Pest Management Science*, 61:246-257.

Tan, S., Evans, R., y Singh, B. 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino acids*, 30:195-204.

Tranel, P. J., y Wright, T. R. 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned?. *Weed Science*, 50:700-712.

Trucillo Silva, I., Altieri, E., Bulos, M. y Sala, C.A. 2010. Arrastre por ligamiento debido a la incorporación de la resistencia a las imidazolinonas en girasol. En: Actas V Congreso Nacional de Girasol, Buenos Aires, Argentina, pp.308-309.

Trucillo Uriarte, V., Zambelli, A.D., Kaspar, M. y Pardo, P.A. 2012. Sorghum plants having a mutant polynucleotide encoding the large subunit of mutated acetohydroxyacid synthase protein and increased resistance to herbicides U.S. Patent Application No. 13/822,276.

van Oosterom EJ, Hammer GL. 2008. Determination of grain number in sorghum. *Field Crops Research*, 108:259-268.

Vila-Aiub, M. M., Neve, P., y Powles, S. B. 2009. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist*, 184:751-767.

Werck-Reichhart, D., Hehn, A., y Didierjean, L. 2000. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends in plant science*, 5:116-123.

Weston, B., Pfenning, M., Perez-Brea, J., Tan, S., McNevin, G., Carlson, D., Bertero de Romano, A., Romano, C., Bulos, M., y Sala, C. A. 2012. Yield and oil improvements in Clearfield plus sunflowers. *En Proc. 18th Sunflower Conference, Mar del Plata-Balcarce, Argentina*, pp.557-562.

Yu, Q., Han, H., Vila-Aiub, M. M., y Powles, S. B. 2010. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. *Journal of experimental botany*, 61: 3925-3934.

ANEXO

Tabla A1. Tiempo a floración (días) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente				Análisis conjunto
		VT-18	VT-19	AR-19	GA-19	
Efectos						
Carácter		*** (0,5)	ns	*** (0,5)	ns	*** (0,5)
Grupo		*** (0,5)	*** (1)	*** (1)	*** (1)	*** (0,5)
Carácter:Grupo		*** (1)	*** (2)	*** (1,5)	** (2)	*** (1)
Grupo	Carácter					
1	Sin Carácter	86 a	86 a	89 b	86 a	85 b
	Igrowth	91 b	87 a	91 a	88 a	89 a
2	Sin Carácter	83 d	80 b	80 g	75 b	81 c
	Igrowth	82 c	80 b	87 c	76 b	81 c
3	Sin Carácter	78 e	79 b	86 c	76 b	77 e
	Igrowth	82 c	75 c	81 de	73 c	81 c
4	Sin Carácter	77 f	74 c	81 de	75 b	75 g
	Igrowth	83 d	75 c	82 d	73 c	81 c
5	Sin Carácter	80 g	74 c	80 e	73 c	78 d
	Igrowth	78 e	75 c	80 e	73 c	76 f
Grupo						
1		88 a	87 a	90 a	87 a	87 a
2		82 b	80 b	84 b	76 b	81 b
3		80 c	77 c	84 b	74 c	78 c
4		80 d	75 d	81 c	72 d	78 c
5		79 e	75 d	80 d	73 e	77 d
	Carácter					
	Sin Carácter	81 b	79	83 b	77	79 b
	Igrowth	83 a	79	84 a	77	81 a

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

Tabla A2. Duración de llenado (días) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente				Análisis conjunto
		VT-18	VT-19	AR-19	GA-19	
Efectos						
Carácter		*** (0,5)	*** (1)	ns	*** (1)	ns
Grupo		*** (1)	*** (2)	*** (1,5)	*** (1,5)	*** (1,5)
Carácter:Grupo		*** (1)	*** (3)	*** (2)	*** (2)	*** (2)

Grupo	Caracter					
1	Sin Carácter	44 e	44 e	41 f	41 f	43 e
	Igrowth	44 e	47 cd	44 e	44 e	44 e
2	Sin Carácter	42 f	44 e	47 d	47 d	44 e
	Igrowth	44 e	47 cd	49 c	49 c	44 e
3	Sin Carácter	47 c	46 de	48 cd	48 cd	46 d
	Igrowth	45 d	52 ab	54 a	54 a	48 c
4	Sin Carácter	53 a	54 a	54 a	52 b	52 a
	Igrowth	48 b	53 a	51 b	54 a	50 b
5	Sin Carácter	47 c	51 b	51 b	51 b	48 c
	Igrowth	48 b	49 bc	51 b	51 b	48 c
Grupo						
1		44 d	45 c	40 d	43 d	44 c
2		43 e	45 c	41 cd	48 c	44 c
3		46 c	49 b	42 c	51 b	47 b
4		50 a	53 a	46 a	53 a	51 a
5		47 b	50 b	44 b	51 b	48 b
Caracter						
	Sin Carácter	47 a	48 b	43	48 b	46
	Igrowth	46 b	50 a	43	51 a	46

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

Tabla A3. Altura de planta (cm) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

	Grupo	Caracter	Ambiente				Análisis conjunto
			VT-18	VT-19	AR-19	GA-19	
Efectos							
	Caracter		*** (1,5)	*** (3,1)	*** (1,9)	*** (6,1)	*** (1,5)
	Grupo		*** (2,4)	*** (4,9)	*** (3,1)	*** (9,6)	*** (2,3)
	Caracter:Grupo		*** (3,4)	*** (7,1)	*** (4,3)	*** (13,6)	*** (3,3)
Grupo	Caracter						
1	Sin Carácter	207,8 a	205,0 a	202,5 a	202,5 a	210,2 a	
	Igrowth	182,1 d	190,0 bc	192,5 bc	197,5 b	185,4 d	
2	Sin Carácter	153,5 f	187,5 bc	190,0 c	195,0 ab	158,5 f	
	Igrowth	147,1 g	145,0 e	147,5 f	150,0 d	149,8 g	
3	Sin Carácter	147,1 g	147,5 e	150,0 f	150,0 d	149,9 g	
	Igrowth	187,8 c	185,0 c	190,0 c	185,0 bc	190,4 c	
4	Sin Carácter	187,8 c	192,5 b	195,0 b	195,0 ab	190,9 c	
	Igrowth	188,5 c	190,0 bc	185,0 d	185,0 bc	191,1 c	
5	Sin Carácter	195,7 b	200,0 a	195,0 b	195,0 ab	198,4 b	
	Igrowth	172,8 e	167,5 d	175,0 e	175,0 c	175,4 e	
Grupo							
1		195,0 a	197,5 a	197,5 a	200,0 a	197,8 a	
2		150,3 e	166,2 d	168,7 d	172,5 c	154,1 e	
3		167,5 d	166,2 d	170,0 d	167,5 c	170,1 d	
4		188,2 b	191,2 b	190,0 b	190,0 b	191,0 b	

5		184,2 c	183,7 c	185,0 c	185,0 b	186,9 c
	Caracter					
	Sin Carácter	178,4 a	186,5 a	186,5 a	187,5 a	181,6 a
	Igrowth	175,7 b	175,5 b	178,0 b	178,5 b	178,4 b

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

Tabla A4. Número de granos por m² (NG) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente		
		VT-18	AR-19	Análisis conjunto
Efectos				
Caracter		ns	ns	ns
Grupo		*** (25586)	** (41515)	*** (21564)
Caracter:Grupo		ns	** (58712)	ns
Grupo	Caracter			
1	Sin Carácter	377104	359132 a	337869
	Igrowth	369891	309863 abcd	327029
2	Sin Carácter	359453	234858 e	308779
	Igrowth	354682	322044 abc	331608
3	Sin Carácter	320672	257886 de	280768
	Igrowth	296991	264367 cde	257636
4	Sin Carácter	278734	276814 cde	251571
	Igrowth	271465	262206 de	246509
5	Sin Carácter	322624	298272 bcd	292889
	Igrowth	320944	327203 ab	296368
Grupo				
1		373497 a	334497 a	332449 a
2		357068 a	278451 bc	320193 a
3		308832 b	261126 c	269202 c
4		275099 c	269510 c	249040 c
5		321784 b	312738 ab	294629 b
Caracter				
Sin Carácter		331717	285392	294375
Igrowth		322794	297137	291839

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

Tabla A5. Peso de mil granos (P1000) de cada isohíbrido en ausencia (Conv) y presencia (Igrowth) del carácter, por ambiente y para el conjunto de ambientes, y medias por grupo y por carácter. En la parte superior de la tabla se indican los resultados del análisis de varianza. En el análisis conjunto, el ambiente fue considerado como efecto aleatorio.

		Ambiente		
		VT-18	AR-19	Análisis conjunto
Efectos				
Caracter		*** (0,5)	ns	*** (0,4)

Grupo		*** (0,7)	*** (3,1)	*** (0,7)
Caracter:Grupo		*** (1)	* (4,4)	*** (1)
Grupo	Caracter			
1	Sin Carácter	24,7 f	20,1 d	23,0 f
	Igrowth	25,5 f	20,4 d	23,6 f
2	Sin Carácter	30,3 c	23,5 cd	28,2 c
	Igrowth	29,0 d	24,5 cd	26,9 dc
3	Sin Carácter	31,8 b	26,6 bc	29,9 b
	Igrowth	36,9 a	32,1 a	35,1 a
4	Sin Carácter	37,2 a	34,6 a	35,5 a
	Igrowth	37,0 a	30,9 ab	35,0 a
5	Sin Carácter	27,89 e	25,0 c	26,2 e
	Igrowth	29,0 d	25,7 c	27,3 cd
<hr/>				
Grupo				
1		25,1 e	20,3 d	23,3 e
2		29,6 c	24,0 c	27,5 c
3		34,4 b	29,4 b	32,5 b
4		37,1 a	32,7 a	35,2 a
5		28,4 d	25,3 c	26,7 d
<hr/>				
Caracter				
Sin Carácter		30,4 b	26,0	28,6 b
Igrowth		31,5 a	26,7	29,6 a

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ns: no significativo

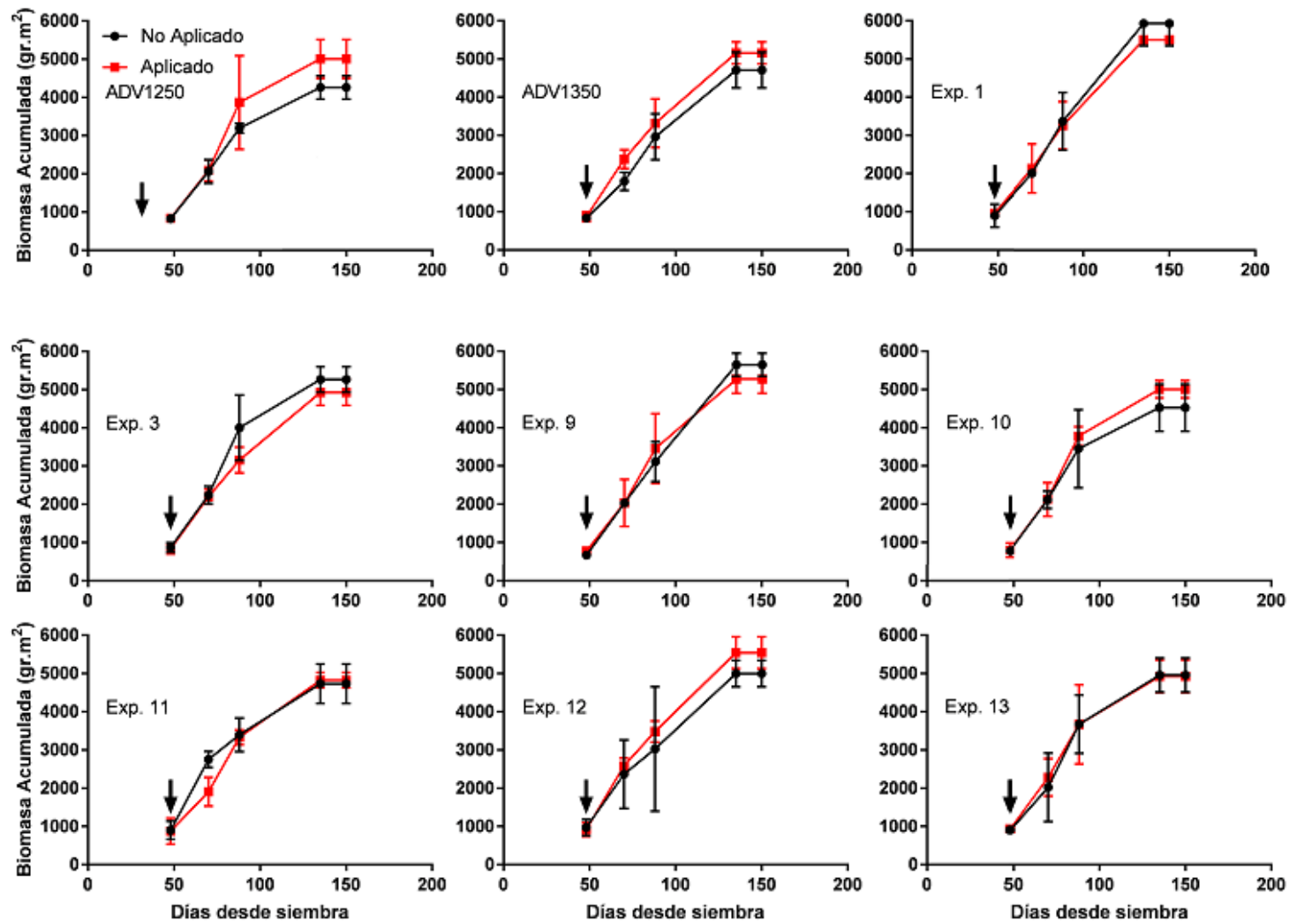


Fig. A1, Biomasa acumulada para cada híbrido y tratamiento en el ambiente VT-19.