



Gobierno  
**Bolivariano**  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la **Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de **Investigaciones Agrícolas**

omía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

Agronomía  
Tropical

**Agronomía  
Tropical**

Depósito Legal: pp. 195102AR73  
ISSN: 0002 - 192X  
AÑO 64 VOL 64 No. 1-2 2014



ISSN : 002 - 192X  
Depósito Legal pp. 195102AR73

**AGRONOMÍA TROPICAL** es publicada por el INIA de la República Bolivariana de Venezuela para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción agrícola vegetal que garanticen la producción de alimentos y temas que contribuyan con la sustentabilidad de los sistemas agro productivos.

#### Miembros Fundadores

Luis Medina (Dir.)  
Bruno Mazzani  
Wasily Iljin  
Rafael Pontis Videla  
Jesús Silva Calvo  
Gino Malagutti  
Giuseppe Ravanello  
Luis A. Salas F.  
Salomón Horovitz  
Pedro Obregón  
Dora Micheletti de Zerpa

#### Comité Editorial

Delis Pérez	Editora Jefe
Grigna Piña	Editor Técnico
Andreina Muñoz	Editora Asistente
Zulay Melo	Seguimiento
Carmen Solórzano	Diagramadora

Editada por la Gerencia de Investigación e Innovación Tecnológica  
Coordinación Área de Gestión de la Información.  
Impresa en el Taller de Artes Gráficas del INIA.  
Tiraje: 300 ejemplares

Unidad de Distribución y Venta de Publicaciones.  
INIA. Apdo. postal 2105, Maracay 2101.  
Estado Aragua, Venezuela.  
Precio Bs. 350,00

Correo electrónico: [dyvpublicaciones@inia.gob.ve](mailto:dyvpublicaciones@inia.gob.ve)

La revista *Agronomía Tropical* está disponible en la red de biblioteca INIA. Se puede acceder a la versión digital por internet a través de nuestro sitio web: <https://www.inia.gob.ve>  
área publicaciones

## Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Juan Pablo Buenaño	<b>Presidente</b>
Luis Dickson	<b>Gerente General</b>
Delis Pérez Sánchez	<b>Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica</b>
Yenry Urrea	<b>Gerente de Producción Social</b>
María F. Sandoval	<b>Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario</b>

#### Editores Asociados

Oscar Abarca (ACAV)	Recursos de Aguas y Tierras
Aída Ortiz (UCV)	Cereales, Malezas y Semillas
Delis Pérez (INIA)	Mejoramiento Genético de Plantas
Marjorie Cásares (UCV)	Desarrollo Rural
Lorenzo Velásquez (INIA)	Fertilidad y Manejo de Suelos
Marco Acevedo (INIA)	Mejoramiento Genético de Plantas

#### Consejo Asesor

Juan Vergara	INIA Zulia, Venezuela
Antonio de la Casa	UNC, Argentina
Pedro Morales	INIA CENIAP, Venezuela
Graciela Vergara	UNLPam, Argentina
Ezequiel Alonzo	INIA CENIAP, Venezuela
Emma Ramírez	INIA Táchira, Venezuela
Pedro Monasterio	INIA Yaracuy, Venezuela
Beatriz Graterol	INIA Amazonas, Venezuela
Grigna Piña	INIA CENIAP, Venezuela

#### Indización

CAB Internacional	(Reino Unido)
TROPAG	(Holanda)
AGRIS, FAO	(Roma)
IICA-CIDIA	(Costa Rica)
REVENCYT	(Venezuela)
REFERATIVNY ZHURNAL	(Rusia)
Base Agrícola	
Venezolana, INIA	(Venezuela)
Periódica UNAM	(México)
Fundacite Mérida	(Venezuela)
BIOSIS Zoological Record	(Reino Unido)
Centro de Información y Documentación	(Cuba)
AGRICOLA, National	
Agricultural Library	(USA)
LATINDEX	(México)
MegaBase AGRI 2000	(Venezuela)
Base de Datos REVIS	(CATIE, Costa Rica)
SciELO	(Venezuela)

#### Se acepta el intercambio con otras revistas

Exchange requested	Wir bitten um austausch
On demance l' échange	Gradiremmo cambio

Deseamos permuta

# **AGRONOMÍA TROPICAL**

Agronomía Trop.

Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas  
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras  
Maracay, Venezuela

## TABLA DE CONTENIDO Vol. 64 N° 1 - 2

### Editorial

#### Artículos científicos:

Pág:

Castañeda R., C. Ramis y A. Maselli. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común de la caraota en familias $F_{2:4}$ de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	7
Velásquez R., N. Delgado y L. Angulo-Graterol. Diversidad genética de genotipos de arroz resistentes y susceptibles al daño mecánico producido por el insecto sogata.....	19
Hernández González Y., C. Paredes Niño y H. Cárdenas. Sensibilidad <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijensis</i> Morelet, utilizando fermentos de raquis de plátano y fungicidas.....	31
Velásquez Salazar R., F. García Ratia, D. Diamont Pérez, M. Perdomo Leiva y G. Torrealba-Núñez. Caracterización anatómica de plantas de arroz sometidas a condiciones de déficit hídrico y lámina de agua.....	39
De Gouveia Pérez M. del C., A.J. Gámez y H.R. Pérez. Evaluación y selección participativa de cultivares de caraota.....	49
Roa Delgado S., H. Fernández González, L. Angulo Graterol, N. Useche Carrillo e Y. De Faría Muñoz. Caracterización molecular de genotipos de <i>Rubus</i> mediante marcadores microsatélites.....	61
Torrealba-Núñez G., R. Yovanny, O.C. León Brito, G.C. Martínez Zapata, A.A. Higuera Moros y T. Sáez. Evaluación y selección participativa de cultivares de <i>Vigna unguiculata</i> L.....	73
Alezones B., A. Casanova y H. Laurentin. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones segregantes de girasol provenientes de híbridos comerciales.....	83
León Pacheco R., M. Pérez Macias, M. Gutiérrez Trocel, A. Rodríguez Izquierdo, F. Fuenmayor Campos y C. Marín Rodríguez. Caracterización ecofisiológica de cuatro clones de yuca del banco de germoplasma del INIA-CENIAP.....	97
Silva Díaz R.J., A.A. Pérez Colmenares, S.A. Medina Montilla, J.E. Viloría Díaz, P.J. García Mendoza, A. Duarte, J. Tablante y T. Pacheco. Estabilidad fenotípica de híbridos de maíz en Venezuela utilizando el índice de superioridad y la regresión lineal bisegmentada.....	107

Instrucciones a los autores

## TABLE OF CONTENTS Vol. 64 N° 1 - 2

### Editorial

### Scientific Articles

Pág:

Castañeda R., C. Ramis y A. Maselli. Evaluation of resistance to common bacterial blight of black bean in the family $F_{2.4}$ of <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	7
Velásquez R., N. Delgado y L. Angulo-Graterol. Genetic diversity of resistance and sensitive rice genotypes to sogata mechanical damage.....	19
Hernández González Y., C. Paredes Niño y H. Cárdenas. <i>In vitro</i> sensitivity of <i>Mycosphaerella fijensis</i> Morelet to rachis ferments of plantain and fungicide.....	31
Velásquez Salazar R., F. García Ratia, D. Diamont Pérez, M. Perdomo Leiva y G. Torrealba-Núñez. Anatomical characterization of rice plants under conditions of water deficit and water lamina.....	39
De Gouveia Pérez M.delC., A.J. Gámez y H.R. Pérez. Participatory evaluation and selection of black bean cultivars.....	49
Roa Delgado S., H. Fernández González, L. Angulo Graterol, N. Useche Carrillo e Y. De Faría Muñoz. Molecular characterization of <i>Rubus</i> genotypes by microsatellite markers.....	61
Torrealba-Núñez G., R. Yovanny, O.C. León Brito, G.C. Martínez Zapata, A.A. Higuera Moros y T. Sáez. Participatory evaluation and selection of cultivars of <i>Vigna unguiculata</i> L.....	73
Alezones B., A. Casanova y H. Laurentin. Morphological and molecular characterization of sunflower segregant populations coming from commercial hybrids.....	83
León Pacheco R., M. Pérez Macias, M. Gutiérrez Trocel, A. Rodríguez Izquierdo, F. Fuenmayor Campos y C. Marín Rodríguez. Ecophysiological characterization of four clones of cassava from genebank at INIA-CENIAP.....	97
Silva Díaz R.J., A.A. Pérez Colmenares, S.A. Medina Montilla, J.E. Viloría Díaz, P.J. García Mendoza, A. Duarte, J. Tablante y T. Pacheco. Phenotypic stability of maize hybrids in Venezuela using the index of superiority and the bilinear regression.....	105
Instructions to authors	

## EDITORIAL

La Revista **Agronomía Tropical** se complace en presentar la Edición Especial de los trabajos en extenso del VI Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola (VI CONVEME); evento desarrollado en la sede del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Guárico) del 11 al 13 de junio de 2014 en la ciudad de Calabozo y que contó con el tema central “Ampliación de la diversidad genética y de la diversidad de especies para el fortalecimiento de la agricultura venezolana”.

El mejoramiento genético de plantas, con el auxilio de herramientas biotecnológicas, puede y debe ofrecer alternativas que permitan la ampliación de la base genética de los cultivos y la oportunidad de estimular el desarrollo de nuevos materiales genéticos, lo que conlleva a que la enseñanza y la investigación en estas áreas, constituyan un medio indispensable de contribución al desarrollo autónomo y bienestar agroalimentario de nuestro pueblo.

El tema de las ciencias agrícolas es inagotable, y los avances en el mejoramiento genético de cultivos y la biotecnología generan grandes expectativas en la solución de problemas emergentes de la agricultura. De allí, que esta Edición Especial comprende artículos científicos de mejoramiento genético en toda su dimensión: a) con la aplicación de herramientas biotecnológicas desde lo convencional a lo más novedoso; b) con mejoras de factores bióticos (plagas) y abióticos (déficit hídrico); y c) con estudios de diversidad genética involucrando a los actores de la cadena productiva, donde el agricultor juega un papel relevante y decisivo en la adopción de la tecnología, generándose nuevas variedades, así como la producción de semilla genética, insumo principal en la consolidación de la seguridad y soberanía alimentaria de Venezuela.

Dra. Gelis Torrealba  
Presidenta del Comité Organizador del VI CONVEME



## Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común de la caraota en familias $F_{2:4}$ de *Phaseolus vulgaris* L.

### Evaluation of resistance to common bacterial blight of black bean in the family $F_{2:4}$ of *Phaseolus vulgaris* L.

Rossmay Castañeda<sup>1</sup>, Catalina Ramis<sup>2\*</sup> y Anna Maselli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA Lara y Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), respectivamente. Venezuela.

<sup>2</sup>Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Apdo. 4579, Maracay 2101A, estado Aragua. Correos electrónicos: rcastaneda@inia.gov.ve, cmcramis@yahoo.es\*

#### RESUMEN

La caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), representa uno de los alimentos básicos en la dieta del venezolano. La productividad se ve seriamente afectada por la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli*. La incorporación de genes de resistencia, a través de programas de cruzamiento se presenta como una alternativa de control. Con el fin de evaluar la resistencia a la bacteriosis común, se estudiaron familias  $F_{2:4}$  de la caraota provenientes del cruce XAN-154 y MEM-0301013. Las plantas fueron inoculadas con heridas, utilizando un cojín de alfileres sobre las protófilas, con una cepa proveniente de Tucutunemo. Las variables evaluadas, tamaño de las manchas (mm) y porcentaje del área foliar afectada (% AFA), permitieron estudiar el avance de la enfermedad. Para el momento de máximo desarrollo de la enfermedad, 25 días después de inoculadas (DDI) las plantas, se determinó la distribución de la frecuencia en los distintos grados de la escala de reacción (1 al 9). Se realizó la prueba de bondad de ajuste ( $\chi^2$ ), arrojando que la segregación observada correspondió a un gen mayor dominante en  $F_2$ . Se encontraron dos familias  $F_{2:4}$  (16 y 36) completamente resistentes, el padre XAN-154 y el genotipo XAN-149 presentaron resistencia alta. La mayoría de las familias  $F_{2:4}$  mostraron resistencia alta a moderada. La resistencia aportada por el progenitor XAN-154, pudiera utilizarse como fuente de resistencia monogénica en la conformación de otras poblaciones para mejoramiento genético. Se evidenció la presencia de poligenes a la resistencia posiblemente aportados por ambos progenitores: estos genes menores pudieran aprovecharse en futuros programas de mejoramiento.

**Palabras clave:** *Xanthomonas phaseoli*, herencia, inoculación.

#### ABSTRACT

The black bean (*Phaseolus vulgaris* L.), is one of the staples in the Venezuelan diet. Productivity is seriously affected by the common bacterial blight caused by *Xanthomonas phaseoli*. Incorporating resistance genes through breeding programs is presented as an alternative control. In order to evaluate the resistance to common bacterial blight, black beans families  $F_{2:4}$  were studied, from crossing XAN-154 and MEM-0301013. The plants were inoculated with Tucutunemo strain, using the multiple needle method on protophylls. The variables evaluated, spot size (mm) and percentage of leaf area affected (%FAA) allowed us to study the disease advance. For the moment of maximum development of disease, 25 days after plants inoculation (DDI), the frequency distribution of the different degrees of reaction (scale from 1 to 9) was determined. The goodness of fit test ( $\chi^2$ ) was performed, yielding that segregation observed corresponded to a single dominant gene in  $F_2$ . Two families  $F_{2:4}$  (16 and 36) were found completely resistant, the father XAN-154 and genotype XAN-149 showed high resistance. Most families  $F_{2:4}$  showed high to moderate resistance. The resistance provided by the parent XAN-154, could be used as a source of monogenic resistance for the conformation of other populations in genetic breeding. There was evidence of the presence of polygenes for resistance possibly provided by both parents, these genes of smaller effect, could be used in future breeding programs.

**Key words:** *Xanthomonas phaseoli*, inheritance, inoculation.

## INTRODUCCIÓN

La caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), es una de las once especies que alimentan al mundo (Cruz, 2000). Se utiliza como alimento básico suministrando proteínas, calorías, vitaminas y sales minerales. Su producción abarca los cinco continentes, siendo América y África los mayores productores y consumidores de esta leguminosa (Cruz, 2000; Acosta *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2009). Representa uno de los alimentos básicos en la dieta del venezolano y es la principal fuente de proteína vegetal (Mekbib, 2003; Mwale *et al.*, 2008).

La productividad de este rubro en el país es baja, según el Segundo Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación (Gutiérrez *et al.*, 2008), los rendimientos han progresado desde 600 kg ha<sup>-1</sup> a principios de 1990, hasta 900 kg ha<sup>-1</sup> en 2006. Esta situación hace que la producción no satisfaga la demanda nacional, teniéndose que recurrir año tras año a la importación, con las consecuencias económicas y sociales que esto acarrea (Cruz, 2000).

La incidencia de enfermedades es uno de los factores que limita la producción del cultivo. En nuestro país la productividad de la caraota está seriamente afectada por la bacteriosis común originada por *Xanthomonas phaseoli*, siendo una de las principales causas de los bajos rendimientos de este cultivo, ya que reduce de 40 a 45% la producción de grano y afecta la calidad de la semilla (Cruz *et al.*, 2001; Mutlu *et al.*, 2008; Nunes *et al.*, 2008).

La resistencia genética se presenta como la alternativa de control efectiva y ecológicamente sustentable, tomando en cuenta la baja eficiencia del control químico, así como el costo ambiental y económico (Zapata *et al.*, 1985; Yu *et al.*, 1998; Cruz *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2003; Cruz *et al.*, 2004), especialmente cuando se combina con prácticas de cultivo que previenen el establecimiento de patógenos en el campo (Santos *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2008).

Los programas de mejoramiento genético de caraota, enfatizan la identificación de germoplasma como fuente de resistencia a *X. phaseoli* (Yoshii, 1980; Ramírez *et al.*, 1996; Miklas *et al.*, 1999;

Cruz *et al.*, 2001). De esta manera, es necesario incorporar genes de resistencia a través de los programas de cruzamiento con genotipos portadores de la resistencia y genotipos de mejor comportamiento agronómico, para posterior selección de descendientes con características deseables de resistencia y producción.

Por lo anterior, en un programa de mejoramiento financiado por el proyecto BID-FONACIT II N° 26110 2004-000410, a través del sub-proyecto "Búsqueda de marcadores moleculares asociados a la resistencia a la bacteriosis común en caraota", en el presente estudio se tuvo como objetivo evaluar la resistencia a la bacteriosis común de la caraota en familias avanzadas F<sub>2:4</sub> de caraota provenientes del cruce XAN-154 y MEM-0301013.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en las instalaciones de la Unidad de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Maracay, estado Aragua.

**Material vegetal.** Se realizaron cruzamientos usando parentales resistentes a la enfermedad, originando nueve poblaciones. Las plantas F<sub>2</sub> obtenidas se sembraron en condiciones de umbráculo para el estudio de la herencia de la resistencia a *X. phaseoli*, inoculándose con una cepa de la bacteria colectada en los Valles de Tucutunemo, estado Aragua. Las plantas sobrevivientes se cosecharon individualmente, obteniéndose así las familias F<sub>2:3</sub>. A partir de estas F<sub>2:3</sub> disponibles se obtuvieron las familias F<sub>2:4</sub> utilizadas.

Para el estudio se utilizaron 98 familias F<sub>2:4</sub> provenientes del cruce entre el progenitor resistente XAN-154 y el susceptible MEM-0301013 a la bacteria *X. phaseoli*. Se emplearon como testigos resistentes: XAN-154 y XAN-149, líneas avanzadas del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) procedentes del Banco de germoplasma de la Unidad de Recursos Fitogenéticos del Instituto de Genética, Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela y como testigos susceptibles: MEM-0301013 y 'Tacarigua', procedentes del Banco de germoplasma del INIA-CENIAP.

**Preparación del inóculo.** La cepa de *X. phaseoli* fue conservada en el Laboratorio de Protección Vegetal del INIA y multiplicada en medio sólido de agar nutritivo: 3 g de extracto de carne (Extract powder), 5 g de peptona, 8 g de cloruro de sodio y 18 g de agar en un litro de agua destilada; pH 5,8. De las colonias puras de *X. phaseoli*, se preparó una suspensión bacteriana con agua destilada estéril, de 24 horas de crecimiento. A partir de estas, se preparó una suspensión agregándole una gota de Tween 80, hasta llegar a una concentración de  $10^8$  ufc.ml<sup>-1</sup>, medida en el espectrofotómetro, a una lectura entre 0,2 y 0,3 D.O. (rango aproximado para inoculaciones en bacterias), y 460 nm de longitud de onda (Schaad *et al.*, 2001; Movil *et al.*, 2005a; Movil *et al.*, 2005b).

**Método de inoculación.** La inoculación se realizó en las hojas protófilas de las plantas 17 días después de la siembra, utilizando un cojín de alfileres con algodón impregnado de la suspensión bacteriana, haciendo una leve presión sobre las dos hojas ocasionándole heridas, para facilitar la entrada de la bacteria (López, 2003). Posteriormente, se aplicó la suspensión sobre la herida con un asperjador DeVilbiss, a fin de asegurar una buena presión de inóculo. Las plantas inoculadas se colocaron en cámara húmeda 90% HR y 25 a 32 °C, durante 48 h y consecutivamente se trasladaron a condiciones de umbráculo. Como

control de la inoculación, se prepararon testigos positivos y negativos constituidos por tres plantas de cada uno de los genotipos Tacarigua, MEM-0301013, XAN-154 y XAN-149.

**Diseño del experimento.** La respuesta de las familias F<sub>2,4</sub> se evaluó mediante un diseño de bloques al azar con dos repeticiones. La unidad experimental estuvo comprendida por 1 planta. Se sembraron las familias F<sub>2,4</sub> y los testigos a razón de una semilla por bolsa negra de polietileno conteniendo 1 kg de tierra abonada previamente esterilizada.

**Evaluación de la enfermedad.** Se tomaron registros sobre el avance de los síntomas de la enfermedad, considerando las variables tamaño de las manchas presentes en milímetros (mm) y porcentaje del área foliar afectada (%AFA), desde el momento de la aparición de los síntomas, cada 4 días durante 16 días. Se midió el avance de la mancha en los puntos de inoculación sobre la hoja protófila de cada planta y se promediaron las dos medidas por planta. Con tales mediciones se pudo establecer gráficamente, la dinámica de avance de la enfermedad de cada genotipo (Movil *et al.*, 2005a; Movil *et al.*, 2005b), se estimó visualmente %AFA (Cuadro 1) con escala 1 a 9 según López (2003) y se procedió a asignar un grado de avance de la enfermedad.

Cuadro 1. Escala arbitraria de evaluación para porcentaje de área foliar afectada (%AFA) en plantas inoculadas con *Xanthomonas phaseoli*.

Escala	% AFA	Interpretación
1	Sin lesión	Completamente resistente
2	1-12,5	Resistencia alta
3	13-25,5	Resistencia moderada
4	26-38,5	Resistencia baja
5	39-51,5	Baja susceptibilidad
6	52-64,5	Moderada susceptibilidad
7	65-77,5	Alta susceptibilidad
8	78-90,5	Muy alta susceptibilidad
9	91	Susceptibilidad severa

Fuente: López, 2003.

**Evaluación y análisis de la herencia de la resistencia.** Se estudió la segregación de la resistencia, medida tanto en forma cuantitativa como cualitativa. Para el estudio de la herencia monogénica se verificó la herencia de la resistencia a *X. phaseoli* siguiendo el procedimiento de Ramis *et al.* (2007), considerando resistentes las plantas con una escala de reacción de 1 a 4, y susceptibles de 5 a 9.

La frecuencia obtenida para estos dos tipos de fenotipos se comparó con la frecuencia esperada para una segregación de un gen mayor en  $F_2$ , correspondiente a la segregación  $\frac{3}{4}$  resistentes:  $\frac{1}{4}$  susceptibles. Se realizó la prueba de bondad de ajuste ( $\chi^2$ ), donde se compararon las frecuencias observadas y esperadas para las categorías resistente y susceptible.

Para el estudio de la herencia poligénica se realizó un análisis cuantitativo, con el fin de identificar posibles diferencias estadísticas entre genotipos. Se efectuó análisis de varianza para las variables tamaño de la mancha (mm) y %AFA al momento de máxima intensidad de la sintomatología, 25 días después de la inoculación (DDI). En las variables que presentaron diferencias significativas entre los genotipos, se realizó la prueba de medias de Duncan a un nivel de probabilidad del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Desarrollo de la enfermedad

A los 7 DDI se empezaron a evidenciar los síntomas característicos de la enfermedad “bacteriosis común de la caraota” resultados que coinciden con los reportados por Movil *et al.*, 2005a; Salomón, 2002; Ramis *et al.*, 2007; Lagarde *et al.*, 2010. En la lámina foliar, a partir de los puntos de inoculación, se observó una mancha que aumentó de forma irregular, con la presencia de un halo amarillo creciendo hacia los márgenes de la hoja, que posteriormente se tornó de color café, ocasionando en algunos casos la caída de las hojas (Figura 1).

En la Figura 2 se presentan las tendencias observadas para el desarrollo de la enfermedad, medido por el tamaño de la mancha en mm (A) o por el AFA (B). En general, se observaron plantas que durante todo el periodo de evaluación no presentaron síntomas (F16). Otro grupo de genotipos (F64 y F95) mostraron síntomas leves a partir de los 11 DDI, con manchas que no sobrepasaron los 12 mm y no afectaron más de 20% del área foliar, comportamiento que fue similar al del progenitor resistente XAN-154, y al genotipo XAN-149. Ambos grupos se pueden catalogar como resistentes según la escala de López (2003).



Figura. 1. Primeros síntomas de la enfermedad en protófila luego de ser inoculada.

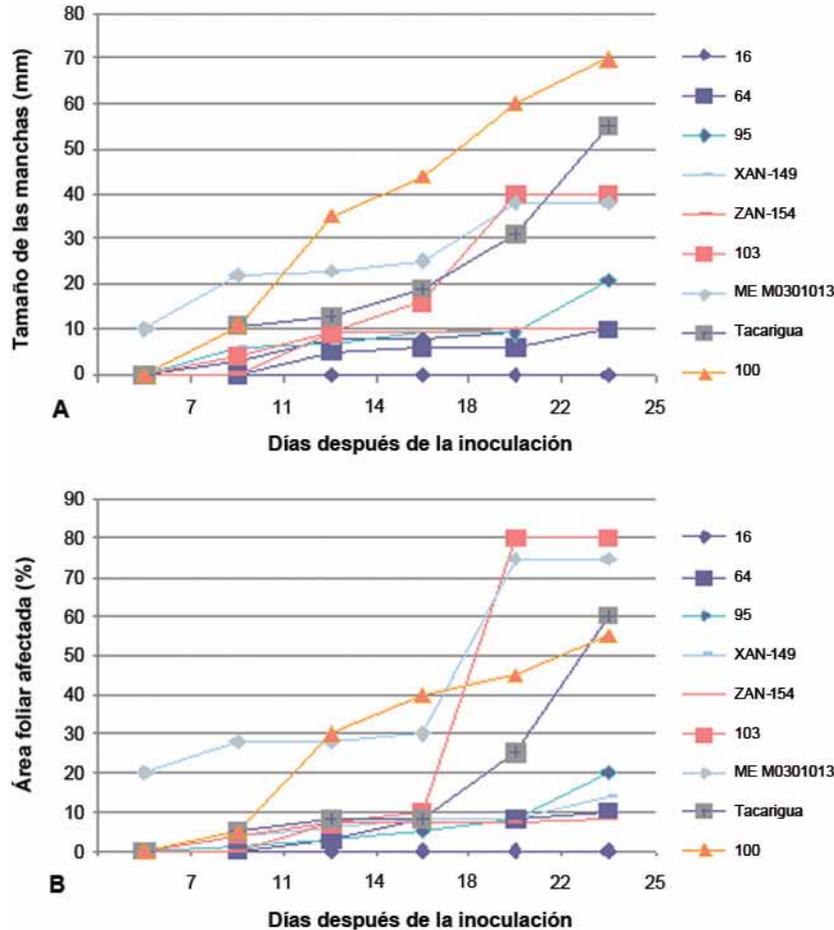


Figura 2. Desarrollo de: A. Tamaño de la mancha y B. Porcentaje del área foliar afectada (%AFA) de testigos y familias  $F_{2:4}$  de caraota a diferentes días después de inoculación.

Otro grupo de familias  $F_{2:4}$  demostraron un desarrollo inicial similar al grupo anterior; sin embargo, a partir de los 18 DDI el desarrollo de la enfermedad se incrementó llegando a afectar hasta un 60% del área foliar. Este comportamiento se evidenció en el progenitor susceptible MEM-0301013, la variedad comercial Tacarigua y las familias 100 y 103, considerándose susceptibles.

### Herencia de la resistencia

**Resistencia monogénica.** Para el momento de máximo desarrollo de la enfermedad en el periodo de observación considerado (25 DDI), se determinó la distribución de la frecuencia de los distintos grados de la escala de reacción a *X. phaseoli* (López, 2003) demostrado en

el Cuadro 2. Se evidenciaron dos familias completamente resistentes (16 y 36), el mayor número de familias (33), y el progenitor XAN-154 ubicado en la escala dos, equivalente a plantas de resistencia alta. Otro grupo de 26 familias, junto al testigo XAN-149, en escala tres equivalente a plantas de resistencia moderada.

Es importante señalar que ninguno de los genotipos evaluados mostró una reacción correspondiente a las escalas 8 y 9, que se interpretan como muy alta susceptibilidad y susceptibilidad severa, respectivamente. Teniendo en cuenta estos resultados, se puede afirmar que el cruce entre el padre XAN-154 y MEM-0301013 es un cruce promisorio, pues, su descendencia mostró una resistencia alta a moderada a la bacteria.

Cuadro 2. Frecuencia de plantas con distintos grado de reacción a *Xanthomonas phaseoli* de testigos y familias F<sub>2:4</sub> de caraota.

Escala <sup>1</sup>	F <sub>2:4</sub>	Testigos	Frecuencia
1	2	0	2,04081633
2	33	XAN-154	33,6734694
3	26	XAN-149	26,5306122
4	20	0	21,4285714
5	12	MEM0301013	11,2244898
6	3	Tacarigua	3,06122449
7	2	0	2,04081633
8	0	0	0
9	0	0	0
<b>Total</b>	<b>98</b>		<b>100</b>

<sup>1</sup>Escala de evaluación para %AFA (López, 2003).

La variedad comercial Tacarigua mostró el mayor grado de susceptibilidad con escala de 6, que se interpreta como moderada susceptibilidad, este resultado coincide con el comportamiento de este cultivar en campo, y la imperiosa necesidad de ofertar a los productores de este rubro, nuevos y mejores cultivares, debido a la poca oferta de materiales en el mercado nacional.

A fin de verificar la herencia de la resistencia a *X. phaseoli*, es importante señalar que hasta el momento en que se realizó este trabajo, no se había efectuado una selección hacia plantas resistentes, por lo que se espera que la segregación de familias F<sub>2:4</sub> corresponda a la misma observada en la población F<sub>2</sub> evaluada por Ramis *et al.* (2007).

En el Cuadro 3 se presenta la prueba de bondad de ajuste ( $\chi^2$ ), donde se comparan las frecuencias observadas y esperadas para las categorías resistente y susceptible. El valor de  $\chi^2$  total obtenido (3,06) es menor al valor tabulado  $\chi^2$  para un grado de libertad (3,84), por lo que se puede afirmar que la segregación observada corresponde a la segregación de un gen mayor dominante en F<sub>2</sub>, confirmando así los resultados obtenidos por Ramis *et al.* (2007), así como las evidencias demostradas por Silva *et al.*, 1989; Cruz *et al.*, 2004, quienes también encontraron resistencia a la bacteria controlada por genes mayores.

De esta manera, se reafirma la resistencia aportada por el progenitor XAN-154, que pudiera

utilizarse como fuente de resistencia monogénica en la conformación de otras poblaciones para el mejoramiento genético.

**Resistencia poligénica.** Se observaron diferencias significativas entre genotipos para la variable tamaño de la mancha (mm), asimismo, diferencias altamente significativas para % AFA. Los coeficientes de variación estuvieron entre 46,56 y 52,08% (Cuadro 4).

El Cuadro 5 muestra el resultado correspondiente a la prueba de medias (DUNCAN) para la variable del tamaño de la mancha (mm) de testigos y familias F<sub>2:4</sub> de caraota; se evidencia la ausencia de una clara definición de grupos, sino por el contrario, un cambio gradual. La familia 87 y la variedad comercial Tacarigua con los valores mayores de media que corresponden a un tamaño de mancha superior, y por tanto, una reacción susceptible con medias de 51,5 y 49 mm, el padre MEM-0301013 también se ubicó entre los genotipos susceptibles con media de 38,5 mm.

Las familias 16 y 36 no presentaron ningún síntoma con medias de 0,0 mm con una reacción completamente resistente; según Borges (1987), la familia 3 con una media de 1,5 mm representa una reacción resistente. Las 34 familias F<sub>2:4</sub> fueron superiores al padre XAN-154 catalogado como resistente y la mayoría de las familias F<sub>2:4</sub> presentaron resistencia alta a moderada.

Cuadro 3. Prueba de bondad de ajuste para la segregación de un gen mayor dominante de resistencia a *Xanthomonas phaseoli* en familias F<sub>2,4</sub> de caraota.

Fenotipo	O	E	$\chi^2$
Resistente	81	73,5	0,7653
Susceptible	17	24,5	2,2959
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>98</b>	<b>3,0612</b>

O= valores observados; E= valores esperados.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de la varianza (ANAVAR) de la resistencia a *Xanthomonas phaseoli* para el tamaño de la mancha y el porcentaje del área foliar afectada de testigos y familias F<sub>2,4</sub> de caraota.

Fuente de variación	G.I.	mm	% AFA
<b>Repeticiones</b>	1	10,191 N.S.	1.439*
<b>Genotipos</b>	101	4.367*	6.522**
<b>E.E</b>	208	3.055	3.862
<b>Total</b>	314		
<b>CV (%)</b>		46,56	52,08

N.S.: no significativo; \*= significativo; \*\*= altamente significativo.

La prueba de medias para la variable %AFA de testigos y familias F<sub>2,4</sub> de caraota (Cuadro 6); muestra que la mayoría de las familias F<sub>2,4</sub> formó grupos con medias entre 1 y 12,5% incluyendo el padre XAN-154 y testigo XAN-149, que corresponden a una resistencia alta. Las familias 16 y 36 con medias de 0,0% para una resistencia completa. La variedad comercial Tacarigua con media de 51,3% con moderada susceptibilidad. Otro grupo estuvo constituido por las familias 38, 47 y el padre MEM-0301013, con medias de 80; 73,5 y 71,3%, respectivamente, siendo susceptibles.

Estos resultados evidencian la presencia de poligenes para la resistencia a la bacteria *X. phaseoli* de la población evaluada de caraota, y posiblemente aportados por ambos progenitores; estos genes menores pudieran aprovecharse en futuros programas de mejoramiento. Resultados similares fueron obtenidos por Lagarde *et al.* (2010) quienes encontraron que el carácter de

resistencia viene dado por la presencia de un gen mayor de resistencia más un conjunto de poligenes de efecto menor, cuando evaluaron plantas F<sub>3</sub> de caraota provenientes del cruce de una variedad local MEM-030114 y la línea 8.

El hecho de encontrar evidencias de la presencia de un gen mayor de resistencia, así como un conjunto de poligenes de efecto menor, no son contradictorios. Por el contrario, coincide con las observaciones más recientes de la herencia de las características cuantitativas, a través del enfoque de QTLs (Quantitative Trait Loci), según el cual se espera que las distintas regiones del genoma que controlan el carácter cuantitativo tengan un aporte diferencial, mostrando regiones o locis con un mayor o menor valor del porcentaje de la variación fenotípica medida (Honma, 1956; Valladares *et al.*, 1983; Arnaud *et al.*, 1994; Ariyaratne *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 1991; Tar'an *et al.*, 2001; Singh and Muñoz., 1999; Borges, 1987).

Cuadro 5. Prueba de medias para la variable tamaño de la mancha de testigos y familias  $F_{2,4}$  de caraota.

Genotipo	Media	Grupo	Genotipo	Media	Grupo	Genotipo	Media	Grupo
87	51,5	A	15	29,0	ABCDEFGHIJK	8	23,0	ABCDEFGHIJK
Tacarigua	49,0	AB	19	9,0	ABCDEFGHIJK	13	10,0	ABCDEFGHIJK
57	46,5	ABC	22	17,0	ABCDEFGHIJK	28	8,0	ABCDEFGHIJK
100	45,0	ABCD	23	11,5	ABCDEFGHIJK	42	10,0	ABCDEFGHIJK
104	41,5	ABCD	29	17,0	ABCDEFGHIJK	44	10,5	ABCDEFGHIJK
47	41,0	ABCD	32	10,5	ABCDEFGHIJK	54	25,0	ABCDEFGHIJK
38	40,0	ABCDE	34	19,0	ABCDEFGHIJK	55	15,0	ABCDEFGHIJK
MEM0301013	38,5	ABCDEF	40	22,5	ABCDEFGHIJK	79	23,0	ABCDEFGHIJK
102	40,5	ABCDEFG	43	10,5	ABCDEFGHIJK	94	17,5	ABCDEFGHIJK
103	35,0	ABCDEFGH	48	17,0	ABCDEFGHIJK	101	16,0	ABCDEFGHIJK
20	31,5	ABCDEFGHI	50	13,5	ABCDEFGHIJK	6	7,5	BCDEFGHIJK
27	30,0	ABCDEFGHIJ	52	11,0	ABCDEFGHIJK	82	7,0	BCDEFGHIJK
45	23,0	ABCDEFGHIJ	53	22,5	ABCDEFGHIJK	21	10,0	CDEFGHIJK
60	27,5	ABCDEFGHIJ	56	9,0	ABCDEFGHIJK	26	7,0	CDEFGHIJK
72	27,0	ABCDEFGHIJ	61	11,5	ABCDEFGHIJK	35	6,5	CDEFGHIJK
78	28,5	ABCDEFGHIJ	62	18,5	ABCDEFGHIJK	64	6,5	CDEFGHIJK
92	23,0	ABCDEFGHIJ	63	21,0	ABCDEFGHIJK	12	7,5	DEFGHIJK
95	22,0	ABCDEFGHIJ	65	12,0	ABCDEFGHIJK	18	5,0	DEFGHIJK
98	24,5	ABCDEFGHIJ	66	11,0	ABCDEFGHIJK	80	4,0	DEFGHIJK
58	22,0	ABCDEFGHIJ	69	15,0	ABCDEFGHIJK	51	5,0	DEFGHIJK
59	26,0	ABCDEFGHIJ	70	18,0	ABCDEFGHIJK	85	6,5	EFGHIJK
88	25,5	ABCDEFGHIJ	73	15,0	ABCDEFGHIJK	39	6,0	FGHIJK
96	22,0	ABCDEFGHIJ	76	14,5	ABCDEFGHIJK	17	5,5	FGHIJK
71	28,5	ABCDEFGHIJ	77	16,5	ABCDEFGHIJK	24	5,5	FGHIJK
75	33,0	ABCDEFGHIJ	81	16,5	ABCDEFGHIJK	25	5,5	FGHIJK
83	27,0	ABCDEFGHIJ	84	14,5	ABCDEFGHIJK	41	5,0	GHIJK
99	28,0	ABCDEFGHIJ	86	17,0	ABCDEFGHIJK	74	4,5	GHIJK
68	12,5	ABCDEFGHIJK	89	19,5	ABCDEFGHIJK	37	4,0	HIJK
1	18,0	ABCDEFGHIJK	90	22,0	ABCDEFGHIJK	67	4,0	HIJK
5	21,5	ABCDEFGHIJK	91	22,0	ABCDEFGHIJK	4	2,5	IJK
7	17,5	ABCDEFGHIJK	93	11,0	ABCDEFGHIJK	9	3,5	IJK
10	22,0	ABCDEFGHIJK	97	17,0	ABCDEFGHIJK	3	1,5	JK
11	13,0	ABCDEFGHIJK	XAN149	16,5	ABCDEFGHIJK	16	0,0	K
14	13,5	ABCDEFGHIJK	XAN154	11,0	ABCDEFGHIJK	36	0,0	K

Letras diferentes en las columnas indican promedios estadísticos distintos.

Cuadro 6. Prueba de medias para el variable porcentaje del área foliar afectada de testigos y familias  $F_{2:4}$  de caraota.

Genotipo	Media	Grupo	Genotipo	Media	Grupo	Genotipo	Media	Grupo
38	80,0	A	89	19,0	ABCDEFGHIIJK	86	15,0	DEFGHIIJK
47	73,5	AB	95	19,0	ABCDEFGHIIJK	XAN149	10,5	DEFGHIIJK
MEM0301013	71,3	ABC	98	16,5	ABCDEFGHIIJK	XAN154	7,0	DEFGHIIJK
87	60,0	ABCD	8	25,0	ABCDEFGHIIJK	22	14,0	DEFGHIIJK
57	55,0	ABCDE	53	19,0	ABCDEFGHIIJK	42	8,0	DEFGHIIJK
103	55,0	ABCDEF	54	22,0	ABCDEFGHIIJK	43	8,0	DEFGHIIJK
Tacarigua	51,3	ABCDEF	55	30,0	ABCDEFGHIIJK	68	11,5	DEFGHIIJK
102	51,0	ABCDEFG	72	26,0	ABCDEFGHIIJK	19	7,5	DEFGHIIJK
20	40,0	ABCDEFGH	75	25,0	ABCDEFGHIIJK	80	6,0	EFGHIIJK
27	51,0	ABCDEFGH	91	24,0	ABCDEFGHIIJK	28	6,5	EFGHIIJK
100	37,5	ABCDEFGHI	92	17,5	ABCDEFGHIIJK	6	6,0	FHIIJK
97	45,0	ABCDEFGHI	99	22,5	ABCDEFGHIIJK	94	10,0	FHIIJK
104	35,0	ABCDEFGHI	15	25,0	BCDEFGHIIJK	82	5,5	FHIIJK
7	34,0	ABCDEFGHIJ	40	17,5	BCDEFGHIIJK	12	7,0	GHIJK
70	33,0	ABCDEFGHIJ	48	21,0	BCDEFGHIIJK	18	3,5	GHIJK
71	34,0	ABCDEFGHIJ	76	15,0	BCDEFGHIIJK	21	6,0	GHIJK
5	29,0	ABCDEFGHIIJK	90	16,5	BCDEFGHIIJK	24	5,0	GHIJK
10	23,5	ABCDEFGHIIJK	96	16,0	BCDEFGHIIJK	25	5,5	GHIJK
29	17,5	ABCDEFGHIIJK	101	14,0	BCDEFGHIIJK	26	5,5	GHIJK
45	22,5	ABCDEFGHIIJK	93	13,0	BCDEFGHIIJK	35	3,0	GHIJK
58	25,0	ABCDEFGHIIJK	73	12,5	CDEFGHIIJK	51	3,0	GHIJK
59	25,0	ABCDEFGHIIJK	11	12,5	CDEFGHIIJK	64	5,5	GHIJK
60	25,0	ABCDEFGHIIJK	1	20,0	DEFGHIIJK	85	5,5	GHIJK
62	22,0	ABCDEFGHIIJK	13	9,0	DEFGHIIJK	37	5,0	GHIJK
63	27,5	ABCDEFGHIIJK	14	10,5	DEFGHIIJK	74	4,5	HIJK
65	17,5	ABCDEFGHIIJK	23	8,0	DEFGHIIJK	39	4,0	HIJK
69	175,0	ABCDEFGHIIJK	32	10,0	DEFGHIIJK	17	4,0	HIJK
77	17,5	ABCDEFGHIIJK	34	13,5	DEFGHIIJK	67	4,0	HIJK
78	21,5	ABCDEFGHIIJK	44	9,0	DEFGHIIJK	41	2,5	IJK
79	26,0	ABCDEFGHIIJK	50	11,5	DEFGHIIJK	9	2,5	IJK
81	19,5	ABCDEFGHIIJK	52	9,0	DEFGHIIJK	3	0,5	JK
83	20,5	ABCDEFGHIIJK	56	8,0	DEFGHIIJK	4	1,0	JK
84	35,0	ABCDEFGHIIJK	61	10,5	DEFGHIIJK	16	0,0	K
88	25,5	ABCDEFGHIIJK	66	8,0	DEFGHIIJK	36	0,0	K

Letras diferentes en las columnas indican promedios estadísticos distintos.

Para definir la importancia del aporte de cada QTL es indispensable realizar el estudio molecular pertinente, con una alta densidad de marcadores polimórficos.

### CONCLUSIONES

Se encontraron dos familias  $F_{2,4}$  identificadas como 16 y 36 completamente resistentes, mientras que el padre XAN-154 y el testigo XAN-149 presentaron resistencia alta. En general, la mayoría de las familias  $F_{2,4}$  mostraron resistencia alta a moderada.

La segregación observada corresponde a un gen mayor dominante en  $F_2$ , donde la resistencia aportada por el progenitor XAN-154, pudiera utilizarse como fuente de resistencia monogénica en la conformación de otras poblaciones para el mejoramiento genético.

### LITERATURA CITADA

- Acosta-Gallegos J., J. Kelly and P. Gepts. 2007. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. *Crop Science* 47(3):44-59.
- Ariyaratne H., D. Coyne, A. Vivader and K. Eskridge. 1995. Inheritance of resistance and associations of leaf, pod and seed reactions to common bacterial blight in common bean. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 38:160-161.
- Arnaul E., D. Coyne, A. Vivader and K. Eskridge. 1994. Inheritance low correlations of leaf, pod and seed reactions to common bacterial blight disease in common beans and implications for selection. *Journal of the American Society for Horticultural Science.* 119:116-121.
- Borges O. 1987. Selección para la resistencia a la quemazón bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*) y a la roya (*Uromyces appendiculatus* (Pers) en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Trabajo de Ascenso. Maracay. Ven. Universidad Central de Venezuela. 111 p.
- Cruz L. 2000. La producción de semilla de caraota a nivel de pequeños productores en Mérida y Trujillo. Fonaiap Divulga N° 46. Julio-septiembre.
- Cruz S., P. Ramírez, R. García, F. Castillo y J. Sandoval. 2004. Selección para la resistencia al tizón común en frijol. *Rev. Fitotecnia. Mexicana.* 27(2):141-147.
- Cruz S., P. Ramírez, B. Tlapal, I. Ramírez, R. García, J. Sandoval y F. Castillo. 2001. Producción masiva de *Xanthomonas axonodopis* pv. *Phaseoli* (Smith) Dye. *Agrociencia.* 35:575-581.
- Gutiérrez M., D. Pérez, A. Romero y D. Rivas. 2008. Segundo informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra (MPPAT); Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA); Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Venezuela. 171 p.
- Homma S. 1956. A bean interspecific hybrid. *J. Hered.* 47:217-220.
- Lagarde P., A. Medina, C. Ramis y A. Maselli. 2010. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas  $F_3$  de caraota (*Phaseolus vulgaris*). *Fitopatología Venezuela.* 23(2):35-39.
- López R. 2003. Caracterización de patógenos implicados en bacteriosis de judía grano (*Phaseolus vulgaris* L.) en Castilla y León, puesta a punto de un método de inoculación y búsqueda de fuentes de resistencia en variedades locales. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla de León (ITA) Junta de Castilla de León. Palencia. España. 124 p.
- Mekbib F. 2003. Yield stability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. Kluwer Academic Publishers. Printed in Netherlands. *Euphytica* 130:147-153.
- Miklas P., M. Zapata, J. Beave and K. Grafton. 1999. Registration of four dry bean germplasms resistant to common bacterial blight: ICB-3, ICB-6, ICB-8, and ICB-10. *Crop Science* 39:594.

- Movil O., A. Masselli, C. Ramis, D. Pérez, M. Pérez, A. Medina, M. Gutiérrez y M. Maselli. 2005a. Desarrollo de la sintomatología de la bacteriosis común de la caraota en diferentes genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. II Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola. IDEA. Caracas-Venezuela.
- Movil O., A. Masselli, C. Ramis, D. Pérez, M. Pérez, A. Medina, C. Marin, M. Maselli y M. Gutiérrez. 2005b. Evaluación de la resistencia de genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. a tres aislamientos de la bacteria *Xanthomonas phaseolis*. XIX Congreso Venezolano de Fitopatología. UCLA. Barquisimeto-Venezuela.
- Mutlu N., K. Vidaver, D. Coyne, J. Steadman, P. Lambrecht and J. Reiser. 2008. Differential pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. fuscans* subsp. *fuscans* strains on bean genotypes with common blight resistance. Published by The American Phytopathological Society . Plant Disease. 92(4):546-554.
- Mwale M., J. Bokosi, C. Masangano, M. Kwapata, V. Kabambe and C. Miles. 2008. Yield performance of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines under Researcher Designed Farmer Managed (RDFM) system in three bean agro-ecological zones of Malawi. African Journal of Biotechnology. 7(16):2.847-2.853.
- Nunes W., M. Corazza, S. Dias de Souza, S. Mui Tsai and E. Kuramae. 2008. Characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* isolates. *Summa Phytopathol.* Botucatu. 34(3):228-231.
- Ramírez V., S. Cruz, F. Castillo, J. Pacheco, G. Pastenes, R. García y R. Robinson. 1996. Caracterización agronómica de líneas de frijol común seleccionadas por resistencia horizontal a patógenos de la Mixteca poblana. In: Taller de mejoramiento de frijol para el siglo XXI: Bases para una estrategia para América Latina. Singh, S.P. y O. Voysest (eds.) Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. pp. 143-150.
- Ramis C., A. Medina, A. Maselli, M. Pérez, O. Movil, L. Salazar, J. Jiménez, A. Bedoya, M. Gutiérrez, D. Pérez y M. Gutiérrez. 2007. Informe final del subprograma: Búsqueda de marcadores moleculares asociados a la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) en caraota. BID-FONACIT II; Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas INIA-CENIAP; Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, CIBA. Maracay, Venezuela.
- Rodríguez O., O. Chaveco, R. Ortiz, M. Ponce, H. Ríos, S. Miranda, O. Días, Y. Portelles, R. Torres y L. Cedeño. 2009. Líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes a la sequía. Evaluación de su comportamiento frente a condiciones de riego, sin riego y enfermedades. Temas de Ciencia y Tecnología. 13:17-26.
- Rodríguez A., J. Ovies y R. Cruz. 1991. Dos malezas hospedantes de *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Protección de Plantas. 1(3-4):43-48.
- Santos A., R. Bressan, M. Pereira, R. Rodrigues and C. Ferreira. 2003. Genetic linkage map of *Phaseolus vulgaris* and identification of QTLs responsible for resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Fitopatologia brasileira. 28(1).
- Salomón J. 2002. Evaluación y selección de familias F<sub>2</sub> en F<sub>3</sub> de caraota *Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Tesis de Maestría. Postgrado en Agronomía. Maracay. Ven. Universidad Central de Venezuela. 70 p.
- Schaad N., J. Jones and G. Lacy. 2001. Gram-Negative Bacteria. *Xanthomonas*. En: Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota, USA.
- Singh S. and C. Muñoz. 1999. Resistance to common bacterial blight among *Phaseolus* species and common bean improvement. Crop Science. 39:80-89.
- Silva L., S. Singh and M. Pastor. 1989. Inheritance of resistance to bacterial blight in common bean. Theor. Appl. Genet. 78:619-624.

- Tar'an B., T. Michaels and K. Pauls. 2001. Mapping genetic factors affecting the reaction to *Xanthomonas axonopodis* pv *phaseoli* in *Phaseolus vulgaris* L. under field conditions. *Genome* 44:1.046-1.056.
- Valladares S., D. Coyne and R. Mumm. 1983. Inheritance and associations of leaf, external and internal pod reaction in common blight bacterium in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108(2):272-278.
- Yoshii K. 1980. Common and fuscous blights. **En:** *Bean Production Problems*. Schwartz, H.F; and G.E, Galvez (ed.). International Centre for Tropical Agriculture (CIAT). Cali, Colombia. pp. 155-172.
- Yu Z., R. Stall and C. Vallejos. 1998. Detection of genes for resistance to common bacterial blight of beans. *Crop Science* 38:1.290-1.296.
- Zapata M., R. Wilkison and G. Freyteag. 1985. Evaluation for bacterial blight resistance in beans. *Phytopathology* 75:1.032-1.039.

## Diversidad genética de genotipos de arroz resistentes y susceptibles al daño mecánico producido por el insecto sogata

### Genetic diversity of resistance and sensitive rice genotypes to sogata mechanical damage

Rosalía Velásquez<sup>1\*</sup>, Nelly Delgado<sup>2</sup> y Luis Angulo-Graterol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Agronomía (FAGRO). Apdo. 4579. Maracay 2101A, estado Aragua. Venezuela.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA). Apdo. 3303, Araure, estado Portuguesa Venezuela.

\*Correos electrónicos: rvelasquezsalazar@gmail.com, delgado.nelly@gmail.com, anguloluis2009@gmail.com

#### RESUMEN

La familia Delphacidae es un grupo de insectos que producen daños de importancia en los cereales. Por ello, se estudió la diversidad genética entre seis genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.), con diferentes comportamientos de resistencia y susceptibilidad al daño mecánico producido por sogata (*Tagosodes orizicolus*), por medio de marcadores moleculares microsatélites SSR, distribuidos en los doce cromosomas del arroz. Se utilizaron 151 SSR para el análisis de agrupamiento UPGMA y distancia Dice. En el análisis, se conformaron tres grupos diferenciados con una correlación cofenética de 0,87; el primero constituido por Bluebonnet 50; en el segundo grupo: D-Sativa, Cimarrón, Venezuela 21 y Zeta 15, y el último grupo por Makalioka. Los coeficientes de similitud de los grupos fueron 0,55; 0,74 y 0,66 para cada una de las agrupaciones. Se observó claramente la separación en la formación de los grupos entre Makalioka y Bluebonnet 50, como genotipos resistente y susceptible, respectivamente. El análisis molecular reflejó una variabilidad genética estrecha para los genotipos evaluados. En la determinación del polimorfismo entre progenitores contrastantes para el daño mecánico de sogata, el mayor porcentaje fue observado entre los cultivares Zeta 15 y Bluebonnet 50 con un 23,18%, seguido por Cimarrón y Bluebonnet 50 con 20,53%, y el menor porcentaje para D-Sativa y Venezuela 21; y Zeta 15 y Venezuela 21; para un 12,58% y 4,64%, respectivamente. Estos resultados serán empleados en la identificación y asociación entre SSR, con características relacionadas al daño mecánico por sogata.

**Palabras clave:** *Oryza sativa* L., *Tagosodes orizicolus*, análisis de agrupamiento, marcadores moleculares, microsatélites.

#### ABSTRACT

The Delphacidae family is a group of insects that cause significant damage in cereals. Genetic diversity among six genotypes of rice (*Oryza sativa* L.), with different behaviors for resistance and susceptibility to mechanical damage from sogata (*Tagosodes orizicolus*) was studied by molecular SSR microsatellite markers, distributed in the twelve rice chromosomes. 151 SSR were used for UPGMA clustering analysis and Dice distance. In the discriminant analysis, three groups were formed with cophenetic correlation of 0.87, the first constituted by Bluebonnet 50; in the second group were D-Sativa, Cimarron, Venezuela 21 and Zeta 15; and in the last group was Makalioka. Similarity coefficients of the groups were 0.55, 0.74 and 0.66 for each of the clusters. Clear separation was observed in the formation of groups between Makalioka and Bluebonnet 50 as resistant and susceptible genotypes, respectively. Molecular analysis showed a close genetic variability for genotypes. In determining the polymorphism between contrasting parents for mechanical sogata damage, the highest percentage 23.18% was observed between Zeta 15 and Bluebonnet 50 cultivars, followed by Cimarron and Bluebonnet 50 with 20.53%, and the lowest percentage for D-Sativa and Venezuela 21, and Venezuela 21 and Zeta 15, with 12.58% and 4.64%, respectively. These results will be used in the identification and association between SSR and characteristics related to mechanical sogata damage.

**Key words:** *Oryza sativa* L., *Tagosodes orizicolus*, clustering analysis, microsatellite, molecular markers.

## INTRODUCCIÓN

La familia Delphacidae es un grupo de insectos considerados plagas que producen estragos de importancia en los cereales (arroz, maíz, trigo, sorgo, entre otros) a nivel mundial. Estas pérdidas son ocasionadas durante la puesta, alimentación o transmisión de diferentes fitopatógenos (Vivas y Astudillo, 2008; Remes, 2001). *Tagosodes orizicolus* pertenece a esta familia de insectos, la cual puede ocasionar dos tipos de daños, uno llamado “daño directo o mecánico” que causa pequeñas incisiones en el tejido foliar a fin de alimentarse u ovipositar; y otro, trasmisor del virus de la hoja blanca (VHB) en arroz o daño indirecto (Vivas y Astudillo, 2008; Jennigs *et al.*, 1981).

En los distintos programas de mejoramiento genético a nivel nacional e internacional, se han venido utilizando los marcadores moleculares como una alternativa confiable y precisa de selección de genotipos promisorios (Pérez-Almeida *et al.*, 2011; Arnao *et al.*, 2007; Triana *et al.*, 2004; McCough *et al.*, 1997). El uso de estos marcadores ha brindado un gran apoyo para la identificación de loci cuantitativos (QTL) para la resistencia a insectos y patógenos; además de la selección de genotipos o materiales deseables agronómicamente.

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), se han realizado estudios preliminares de asociación entre los marcadores de ADN, tipo RAPD y la resistencia a *T. orizicolus* en las líneas de arroz desarrolladas en los programas de mejoramiento de Colombia, con el objeto de facilitar la selección de genotipos resistentes (Picca *et al.*, 2004; Triana *et al.*, 2004).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos, estudiar la diversidad genética entre los genotipos de arroz resistentes y susceptibles al daño mecánico provocados por sogata, empleando marcadores moleculares microsatélites, al tiempo de determinar el polimorfismo entre genotipos de arroz resistentes y susceptibles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue conducido en el Laboratorio de Genética Molecular (LGM) del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía (FAGRO), Maracay.

Con la finalidad de identificar los alelos entre los materiales resistentes y susceptibles al daño mecánico producido por sogata. Se realizaron cruzamientos entre cultivares de arroz resistentes del daño mecánico: Cimarrón, Z-15 y D-sativa; y cultivares susceptibles: Venezuela-21 y BlueBonnet-50 (testigo susceptible). Además, se utilizó el cultivar Makalioka como testigo resistente (INIA, 2005; Álvarez *et al.*, 2000). Los cruces fueron: Cimarrón x Bluebonnet 50 (CB); Zeta 15 x Bluebonnet 50 (ZB); Zeta 15 x Venezuela 21 (ZV) y D-Sativa x Venezuela 21 (DV).

Estos cruces fueron realizados en el campo experimental del Instituto de Genética durante el año 2010, de acuerdo al método simplificado para cruzamientos en arroz, FLAR (1996). La evaluación del polimorfismo entre los progenitores, se realizó mediante el uso de 151 marcadores microsatélites, distribuidos a lo largo de los doce cromosomas del genoma del arroz (Cuadro 1).

El ADN de cada progenitor se obtuvo siguiendo los pasos de la metodología descrita por Risterucci *et al.* (2000) y modificado por Pérez-Almeida *et al.* (2011), como se detalla a continuación: en tubos de 30 ml se colocaron 0,5 g del tejido macerado y se agregó 5 ml del tampón de extracción (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1,4M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB, 1% polietileno-glicol y 0,5% de sulfito de sodio), precalentado a 74 °C. Se aplicó vortex por 3 seg. Los tubos fueron incubados a 74 °C durante 20 min, se les aplicó vortex por 10 seg y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se agregaron 5 ml de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) a cada tubo y se agitaron por inversión 50 veces, para ser centrifugados a 10.000 rpm durante 15 min.

Las condiciones de amplificación por PCR utilizada fueron descritas por Arnao *et al.* (2003), con algunas modificaciones del LGM del CIBA. Se evaluaron 151 microsatélites distribuidos en todo el genoma del arroz, la mezcla de reacción para la amplificación estuvo constituida por 1,33 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  ADN, 3,33 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,2  $\mu\text{M}$  de los microsatélites (sentido y antisentido), 0,33  $\mu\text{M}$  dNTP's y 0,033U  $\mu\text{l}^{-1}$  Taq comercial, completando a un volumen final de 15  $\mu\text{l}^{-1}$  con Buffer1X.

Cuadro 1. Marcadores microsatélites empleados en la evaluación molecular para la determinación del polimorfismo de las variedades de arroz.

N°	SSR	C	Motivo repetitivo	Pb	Secuencia del Indicador		T
					Sentido	Antisentido	
1	RM1	1	(GA)26	113	GCGAAAACACAATGCAAAAA	GCGTTGGTTGGACCTGAC	55
2	RM5	1	(GA)14	113	TGCAACTTCTAGCTGCTCGA	GCATCCGATCTTGATGG	55
3	RM9	1	(GA)15GT(GA)2	136	GGTGCCATTGTCGTCCTC	ACGGCCCTCATCACCTTC	55
4	RM14	1	(GA)18	191	CCGAGGAGAGGAGTTCCGAC	GTGCCAATTCCTCGAAAA	55
5	RM23	1	(GA)15	145	CATTGGAGTGGAGGCTGG	GTCAGGCTTCTGCCATTCTC	55
6	RM1117	1	(AG)12	143	TTCCGGTACCTCTGACATC	ACCAGAACTTCTGTAGCGC	55
7	RM125	1	(CT)13	185	CCGAACGCCCTAGAAGCGGTCC	CGCGAGGTTTGTAAATGGCGG	67
8	RM212	1	(CT)24	136	CCACTTTCAGCTACTACCAG	CACCCATTTGTCTCTCATTATG	55
9	RM220	1	(CT)17	127	GGAAGGTAAGTGTTCACAAC	GAAATGCTTCCCACATGTCT	55
10	RM226	1	(AT)38	274	AGCTAAGTCTGGAGAAAACC	AAGTAGGATGGGCACAAGCTC	55
11	RM327	1	(CT)18	130	CAAATCCCGACTGCTGTCC	TGGAAAGAGAGCACTACAGC	55
12	RM283	1	(GA)18	151	GTCTACATGTACCCTTGTGGG	CGGCATGAGAGTCTGTGATG	55
13	RM306	1	(GT)18(AT)8CT(GT)6	155	CAAGGTCAGAATGCAATGG	GCCACTTAAATCATTGCATC	55
14	RM315	1	(AT)4(GT)10	133	GAGTACTTCTCCGTTTCCAC	AGTCAGTCACTGTGCAGTG	55
15	RM243	1	(CT)18	116	GATCTGCAGACTGCAGTTGC	AGCTGCAACGATGTTGTCC	55
16	RM259	1	(CT)17	162	TGGAGTTTGAGAGGAGGG	CTTGTGCATGGTGCCATGT	55
17	RM490	1	(CT)13	101	ATCTGAACACTGCAAAACACC	AGCAAAGCAGTGCTTTCAGAG	55
18	RM499	1	(TA)22	116	TACCAAAACACCAACACTGCG	ACTCGCAGTATCCAAGTGTAG	55
19	RM543	1	(GCG)10	98	CTGCTGCAGACTCTSCTGCG	AAATATTACCCATCCCCCCC	55
20	RM572	1	(TC)14	159	CGGTTAATGTATCTGATTGG	TTGAGATCCAGACTGACC	55
21	RM575	1	(AG)24	201	CAATTTCCATAGGCTGCATG	GCTTGGGTTAGCGACGAC	55
22	RM580	1	(CTT)19	221	GATGAACCGAATTTGCATCC	CACCTCCATGTTTGGCTCC	55
23	RM582	1	(TC)20	231	TCTGTTGCCGATTTGTTCCG	AAATGGCTTACCTGCTGTCTC	55
24	RM6	2	(AG)16	163	GTCCCCTCCACCCAATTC	TCGTCTACTGTTGGCTGCAC	55
25	RM8	2	(GA)14C(GA)2	252	CACGTGGCGTAAATACACGT	GGCCAAAACCCTAACCCCTG	55
26	RM29	2	(GA)7	250	CAGGACCCACCTGTCTATAC	AACGTTGGTCATATCGGTGG	55
27	RM53	2	(GA)14	182	ACGCTCGACGCATCAATGG	CACAAGAACTTCCCTCGGTAC	55
28	RM174	2	(AGG)7(GA)10	208	AGCGACGCCAAGACAAGTCGGG	TCCACGTGATCGACACGACGG	67
29	RM203	2	(AT)21	203	CCATCCCATTAGCCAAACATTGC	GATTTACCTCGACGCCAACCTG	55
30	RM207	2	(CT)25	118	CCATTCGTGAGAAGATCTGA	CACCTCATCTCGTAAACGCC	55

C: cromosoma; pb: pares de bases.

./... continúa

./... continuación Cuadro 1.

N°	SSR	C	Motivo repetitivo	pb	Secuencia del indicador		T
					Sentido	Antisentido	
31	RM211	2	(TC)3A(TC)18	161	CCGATCTCATCAACCAACTG	CTTACGAGGATCTCAAAGG	55
32	RM213	2	(CT)17	139	ATCTGTTTGCAGGGGACAAG	AGTCTAGACGATGTCGTGA	55
33	RM221	2	(TC)4T3C3(TC)(CT)2	192	ACATGTCAGCATGCCACATC	TGCAAGAATCTGACCCCGG	55
37	RM322	2	(CAT)7	112	CAAGCGAAAAATCCCAGCAG	GATGAAACTGGCATTGCCTG	55
38	RM324	2	(CAT)21	175	CTGATCCACAGACTTGTGC	GATCCACGTCAGGATCTTC	55
39	RM240	2	(CT)21	132	CCTTAATGGGTAGTGTGCAC	TGTAACCAATCCCTCCATCC	55
40	RM241	2	(CT)21	132	CCTTAATGGGTAGTGTGCAC	TGTAACCAATCCCTCCATCC	55
41	RM250	2	(CT)17	153	GGTTCAAACCAAGCTGATCA	GATGAAAGGCCTCCACGCAG	55
42	RM450	2	(AG)17	143	AAACCACAGTAGTACGCCCGG	TCCATCCACATCTCCCTCTC	55
43	RM498	2	(CA)10	213	AATCTGGCCCTGCTCTTTTC	TCCTAGGGTGAAGAAAGGGG	55
44	RM525	2	(AAG)12	131	GGCCCGTCCAAGAAATATTG	CGGTGAGACAGAATCCTTACG	55
45	RM526	2	(TAAT)5	240	CCCAGAATACGTCCCTAG	ACCTGGTCATGACAAAGGAGG	55
46	RM550	2	(CCT)8	231	CTGAGCTCTGGTCCGAAGTC	GGTGGTGAAGAACAAGGAAG	55
47	RM555	2	(AG)11	223	TTGGATCAGCCAAAGGAGAC	CAGCATTGTGGCATGGATAC	55
48	RM561	2	(GA)11	190	GAGCTGTTTGGACTACGGC	GAGTAGCTTTCGCCACCCCC	55
49	RM7	3	(GA)19	180	TTCCCATGAAGTCTCTCG	CCTCCCATCAITTCGTTGTT	55
50	RM16	3	(TCG)5(GA)16	181	CGCTAGGGCAGCATCTAAA	AACACAGCAGGTACGCCG	55
51	RM114	3	(GA)7	209	CAGGGACGAATCGTCGCCGGAG	TTGGCCCCCTTGAGGTGTCGG	55
52	RM186	3	(CGG)5	124	TCCTCCATCTCCCGCTCCC	GGCGTGGTGGCCCTTCTCGTC	61
53	RM200	3	(GA)16	122	CGCTAGGGAATTTGGATTGA	CGATGAGCAGGTATCGATGAGAAG	55
54	RM231	3	(CT)16	182	CCAGATTATTTCTGAGGTC	CACTTGATAGTTCTGCATTG	55
55	RM232	3	(CT)24	158	CCGGTATCCTTCGATATTGC	CCGACTTTTCCCTCCTGACC	55
56	RM282	3	(GA)15	136	CTGTGTGAAAAGGCTGCAC	CAGTCTGTGTTGCAGCAAG	55
57	RM251	3	(CT)29	147	GAATGGCAATGGCGCTAG	ATGCGGTTCAAGATTCCGATC	55
58	RM489	3	(ATA)8	271	ACTTGAGACGATCGGACACC	TCACCCATGGATGTTGTCAG	55
59	RM523	3	(TC)14	148	AAGGCATTGCAGCTAGAAGC	GCACCTGGGAGGTTTGTAG	55
60	RM532	3	(CA)9	180	TCTATAATGTAGCCCCCCCC	TTTCAGGGGCTTCTACCAAC	55
61	RM545	3	(GA)30	226	CAATGGCAGAGACCCCAAAAG	CTGGCATGTAACGACAGTGG	55
62	RM554	3	(GA)14	259	GTTCCGCTCTCTCGTCTC	CCCAAAATCTGTCCTCTC	55
63	RM569	3	(CT)16	175	GACATTCTCGTTCCTCCTC	TGTCCTCTTAAAACCCCTCC	55

C.: cromosoma; pb.: pares de bases.

./... continúa

./... continuación Cuadro 1.

N°	SSR	C	Motivo repetitivo	pb	Secuencia del Indicador		T
					Sentido	Antisentido	
64	RM142	4	(CGG)7	240	CTCGCTATCGCCATCGCCATCG	TCGAGCCATCGCTGGATGGAGG	67
65	RM261	4	C9(CT)8	125	CTACTTCTCCCTTGTGTGG	TGTACCATCGCCAAATCTCC	55
66	RM185	4	(AGG)9	197	AGTTGTTGGGAGGAGAAAGGCC	AGGAGCGAGCGCGATGTCCTC	61
67	RM317	4	(GC)4(GT)18	155	CATACCTACCAGTTCACCGCC	CTGGAGAGTGCAGCTAGTTGA	55
68	RM335	4	(CTT)25	104	GTACACACCCACATCGAGAAG	GCTCTATGCGAGTATCCATGG	55
69	RM349	4	(GA)16	136	TTGCCATTGCGTGGAGGCG	GTCCATCATCCCTATGTCG	55
70	RM273	4	(GA)11	207	GAAGCCGTCGTGAAGTTACC	GTTTCTACTGATCGCGAC	55
71	RM252	4	(CT)19	216	TTCGCTGACGTGATAGGTTG	ATGACTTGATCCCGAGAACG	55
72	RM518	4	(TC)15	171	CTCTTCACTCACTCACCCATGG	ATCCATCTGGAGCAAGCAAC	55
73	RM551	4	(AG)18	192	AGCCAGACTAGCATGATTG	GAAGCGAGAAAGGATCACAG	55
74	RM13	5	(GA)6-(GA)16	141	TCCAACATGGCAAGAGAGAG	GGTGGCATTTCGATTCACG	55
75	RM26	5	(GA)15	112	GAGTCGACGAGCGGCAGA	CTGGAGCGACGGTAACA	55
76	RM31	5	(GA)15	140	GATCAGGATCCACTGGAGCT	AAGTCCATTACTCTCCTCC	55
77	RM164	5	(GT)16TT(GT)4	246	TCTTGCCCGTCACTGCAGATATCC	GCAGCCCATAGCTACAATCTTC	55
78	RM169	5	(GA)12	167	TGGCTGGCTCCGTGGTAGCTG	TCCCGTTGCCGTTTATCCCTCC	67
79	RM173	5	(GA)9	186	CTTACC TC GCGATCCCCCCTC	CCATGAGGAGGAGCGGGCGATC	67
80	RM178	5	(GA)5(AG)8	117	TCGCGTAAAAGATAAGCGGCGC	GATCACCGTTCCTCCGCTGC	67
81	RM208	5	(CT)17	173	TCTGCAAGCCTTGTCTGATG	TAAGTCGATCATTGTGGACC	55
82	RM541	5	(TC)16	158	TATAACCGACCTCAGTGCCC	CCTTACTCCCATGCCATGAG	55
83	RM563	5	(CCT)6	185	CGACCCTAGGGTTTCTCC	CTCGACGTCGTGGAAGC	55
84	RM3	6	(GA)2GG(GA)25	145	ACACTGTAGCGGCCACTG	CCTCCACTGCTCCACATCTT	55
85	RM30	6	(AG)9(GA)12	105	GGTTAGGCATCGTCACGG	TCACCTCACACACGACACG	55
86	RM400	6	(ATA)63	321	ACACCAGGCTACCCAAACTC	CGGAGAGATCTGACATGTGG	55
87	RM170	6	(CCT)7	121	TCGGCTTCTTCTCCTCGTCGACG	CCCCTTGCAGAGGAAGCAGCC	55
88	RM190	6	(CT)11	124	CTTTGTCTATCTCAAGACAC	TTGCAGATGTTCTTCTCTGATG	55
89	RM204	6	(CT)44	169	GTGACTGACTTGGTCATAGGG	GCTAGCCATGCTCTCGTACC	55
90	RM225	6	(CT)18	140	TGCCCATATGGTCTGGATG	GAAAGTGGATCAGGAAGGC	55
91	RM238	6	(CT)15	147	GATGGAAAAGCACGTGACTA	ACAGGCAATCCGTAGACTCG	55
92	RM527	6	(GA)17	233	GGCTCGATCTAGAAAATCCG	TTGCACAGGTTGCGATAGAG	55
93	RM528	6	(AGAT)9	232	GGCATCCAATTTTACCCCTC	AAATGGAGCATGGAGGTCAC	55

C: cromosoma; pb: pares de bases.

./... continúa

./... continuación Cuadro 1.

N°	SSR	C	Motivo repetitivo	pb	Secuencia del Indicador		T
					Sentido	Antisentido	
94	RM539	6	(TAT)21	272	GAGGTCCTTGTAAAAACCG	AGTAGGGTATCACGCATCCG	55
95	RM2	7	(GA)1	150	ACGTGTCACCCGCTCCCTC	ATGTCCGGGATCTCATCG	55
96	RM10	7	(GA)15	159	TTGTCAAGAGGAGGCATCG	CAGAAATGGAAATGGGTCC	55
97	RM11	7	(GA)17	140	TCCTCTTCCCCCGATC	ATAGCGGGCGAGGCTTAG	55
98	RM51	7	(GA)13	142	TCCTGATCAATGTCTCCGG	CTACGTCATCATCGTCTTCCC	55
99	RM134	7	(CCA)7	93	ACAAGCCCGGAGAGGATCCG	GCTCTCCGGTGGTCCGATTGG	55
100	RM70	7	(ATT)33	170	GTGGACTTCATTTCAACTCG	GATGATAAGATAGTCCC	55
101	RM3743	7	(GA)17	180	TAGCCTTGTTCCATCCATCC	CTTCTCCCTCTCCTTCTCC	55
102	RM5420	7	(TC)16	127	CCTGATCTCAACACACACGC	GAAGTCTTGTTCGCGGTATG	55
103	RM214	7	(CT)14	112	CTGATGATAGAAACCTCTTCTC	AAGAACAGCTGACTTCACAA	55
104	RM248	7	(CT)25	102	TCCTTGTGAAATCTGGTCCC	GTAGCCTAGCATGGTGCATG	55
105	RM542	7	(CT)22	113	TGAATCAAGCCCCCTCACTAC	CTGCAACGAGTAAGGCAGAG	55
106	RM15	8	(CGT)6(CGG)5	0	CACGACGACGACGAGCAGCAGC	GCTCGAGGGAGAGCGACCTGCC	61
107	RM44	8	(GA)16	99	ACGGGCAATCCGAACAACC	TCGGAAAAACCTACCCTACC	55
108	RM137	8	(CT)7	218	GACATCGCCACCAGCCACCAC	CGGGTGTCCCGAGGATCTTG	55
109	RM149	8	(AT)10	253	GCTGACCAACGAACCTAGGCCG	GTTGGAAGCCTTTCCTCGTAACACG	55
110	RM210	8	(CT)23	140	TCACATTCGGTGGCATTG	CGAGGATGGTTGTCACTTG	55
111	RM223	8	(CT)25	165	GAGTAGCTTGGGCTGAAAC	GAAAGCAAGCTTGGCACTG	55
112	RM230	8	(AGG)4(GA)9A(AG)13	257	GCCAGACCGTGGATGTTCC	CACCGCAGTCACTTTTCAAG	55
113	RM310	8	(GT)19	105	CCAAAAACATTTAAAATATCATG	GCTTGTGGTCAATACCATTCC	55
114	RM256	8	(CT)21	127	GACAGGGAGTGATTGAAGGC	GTTGATTTCCGCAAGGGC	55
115	RM160	9	(GAA)23	131	AGCTAGCAGCTATAGCTTAGCTG GAGATCG	TCTCATCGCCATGGAGGCCCTC	55
116	RM201	9	(CT)17	158	CTCGTTTATTACCTACAGTACC	CTACCTCCTTTCTAGACCCGATA	55
117	RM205	9	(CT)25	122	CTGGTTCTGTATGGGAGCAG	CTGGCCCTTACAGTTTCAGTG	55
118	RM215	9	(CT)16	148	CAAAATGGAGCAGCAAGAGC	TGAGCACCTCTTCTCTGTAG	55
119	RM219	9	(CT)17	202	CGTCGGATGATGTAAAGCCT	CATATCGGCATTCGCCCTG	55
120	RM285	9	(GA)12	205	CTGTGGGCCCAATATGTCCAC	GGCGGTGACATGGAGAAAG	55
121	RM316	9	(GT)-8(TG)9(TTTG) 4(TG)4	192	CTAGTTGGGCATACGATGGC	ACGCTTATATGTTACGTC AAC	55
122	RM409	9	(AGC)8	96	CCGTCTCTTGGCTAGGGATTC	GGGGTGTCTTGGCTTCTCTG	55
123	RM242	9	(CT)26	225	GGCCAAACGTTGTATGTCTC	TATATGCCAAAGACGGATGGG	55

C: cromosoma; pb: pares de bases.

./... continúa

./... continuación Cuadro 1.

N°	SSR	C	Motivo repetitivo	pb	Secuencia del Indicador		T
					Sentido	Antisentido	
124	RM245	9	(CT)14	150	ATGCCGCCAGTGAATAGC	CTGAGAAATCCAATTATCTGGGG	55
125	RM566	9	(AG)15	239	ACCCAACTACGATCAGCTCG	CTCCAGGAACACGCTCTTTC	55
126	RM184	10	(CA)7	219	ATCCCAATCGCCAAAACCGGCC	TGACACTTGGAGAGCGGTGTGG	55
127	RM216	10	(CT)18	146	GCATGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCCACACGGCCA	55
128	RM222	10	(CT)18	213	CTTAAATGGGCCACATGCG	CAAAGCTTCGGCCAAAAG	55
129	RM228	10	(CA)6(GA)36	154	CTGGCCATTAGTCTCTGG	GCTTGGGCTCTGCTTAC	55
130	RM311	10	(GT)3(GTAT)8(GT)5	179	TGGTAGTATAGGTACTAAACAT	TCCATACACATACAAAACATAC	55
131	RM239	10	(AG)5TG(AG)2	144	TACAAAATGCTGGTACCCC	ACATATGGGACCCACCTGTC	55
132	RM258	10	(GA)21(GGA)3	148	TGCTGTATGTAGCTCGCAC	TGGCCCTTAAAGCTGTCCG	55
133	RM4	11	(GA)16	159	TTGACGAGGTCAGCACTGAC	AGGGTGTATCCGACTCATCG	55
134	RM21	11	(GA)18	157	ACAGTATCCGTAGGCACGG	GCTCCATGAGGGTGGTAGAG	55
135	RM139	11	(CT)5	386	GAGAGGGAGGAAGGGAGGGCGC	CTGCCATGGCAGAGAAAGGGCC	55
136	RM144	11	(ATT)11	237	TGCCCTGGCGCAAATTTGATCC	GCTAGAGGAGATCAGATGGTAGTCATG	55
137	RM332	11	(CTT)5-12(CTT)14	183	GCGAAGGCGAAGGTGAAG	GCTAGAGGAGATCAGATGGTAGTCATC	55
138	RM167	11	(GA)16	128	GATCCAGCGTGAGGAACACGT	AGTCCGACCAACAAGGTGCGTTGTC	55
139	RM187	11	(AT)29(GT)7	146	CCAAGGAAAGATGCGACAATTG	GTGGACGCTTATATTATGGG	55
140	RM202	11	(CT)30	189	CAGATTGGAGATGAAGTCCTCC	CCAGCAAAGCATGTCAATGTA	55
141	RM209	11	(CT)18	134	ATATGAGTTGCTGTCTGCG	CAACTTGCATCCTCCCCCTC	55
142	RM224	11	(AAG)8(AG)13	157	ATCGATCGATCTTCCAGAGG	TGCTATAAAAGGCATTCGGGG	55
143	RM229	11	(TC)11(CT)5C3(CT)5	116	CACTCACACGAAACGACTGAC	CGCAGGTTCTTGTGAAATGT	55
144	RM254	11	(TC)6ATT(CT)11	165	AGCCCCGAATAAATCCACCT	CTGGAGGAGCATTGGTAGC	55
145	RM12	12	(GA)21	184	TGCCCTGTATTCTTCTCTC	GGTGATCCTTTCCCAATTTCA	55
146	RM6869	12	(TGG)8	126	GAGCTCCTTGTAGTGACCCCG	ATCAGCCTCGCCAGCTTC	61
147	RM235	12	(CT)24	124	AGAAGCTAGGGCTAACGAAC	TCACCTGGTCAGCCTCTTTC	55
148	RM309	12	(GT)13	169	GTAGATCAGCACTTTCTGCG	AGAAGGCCTCCGGTGAAG	55
149	RM247	12	(CT)16	131	TAGTGCCGATCGATGAACG	CATATGGTTTTGACAAAAGCG	55
150	RM519	12	(AAG)8	122	AGAGAGCCCCTAAATTTCCG	AGGTACGCTCACCTGTGGAC	55
151	RM453	12	(TC)10	178	CGCATCTCTCTCCCTTATCG	CTCTCCTCCTCGTTGTCGTC	55

C: cromosoma; pb: pares de bases.

./... continúa

Se utilizó un termociclador BIO-RAD PTC-200 durante 34 ciclos a una temperatura de desnaturalización 94 °C, alineación de 50-67 °C y extensión 72 °C. La visualización de los perfiles electroforéticos fue en geles de poliacrilamida 6% con revelado en nitrato de plata, descrito por Arnao *et al.* (2003). Las imágenes fueron capturadas en un digitalizador de imágenes marca BIORAD modelo CHEMIDOC, utilizando el programa QuantityOne v. 4.2®.

Con el perfil electroforético obtenido del ADN de cada uno de los materiales evaluados en los geles de poliacrilamida y con cada microsatélite, se generó una matriz de presencia (**p** = 1) y ausencia (**a** = 0). La matriz obtenida con todos los marcadores fue analizada con el programa estadístico PAST versión 1.42 (Hammer *et al.*, 2001) mediante análisis multivariado de conglomerados jerárquicos. Este análisis generó un árbol de clasificación jerárquica ascendente, utilizando el análisis de agrupamiento UPGMA y la distancia de Dice. Se determinó el porcentaje de SSR polimórfico para cada uno de los cruces.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 151 microsatélites (SSR) evaluados para identificar el polimorfismo entre los parentales, se encontró que el mayor porcentaje de microsatélites polimórficos fue observado en el cruce entre los cultivares Zeta 15 y Bluebonnet 50 con un 23,18%, seguido por Cimarrón y Bluebonnet 50 con un 20,53%; hallando el menor número

de microsatélites polimórficos en los cruces de D-Sativa x Venezuela 21, Zeta 15 x Venezuela 21, con un 12,58% y un 4,64%, respectivamente (Cuadro 2). Estos resultados corroboran los encontrados por Acevedo *et al.* (2007) al señalar la estrecha base genética que presentan los Bancos de germoplasmas del país.

La mayoría de los microsatélites utilizados mostraron la presencia de dos alelos bien diferenciados entre los parentales y distribuidos a lo largo de todo el genoma. En el Cuadro 3, se pudo determinar que entre Zeta 15 y Bluebonnet 50, se encontró que el 25,71% (9) de los SSR polimórficos, se ubican en el cromosoma 2, seguido con un 14,29% (5) de los microsatélites ubicados en el cromosoma 3.

Por otro lado, entre D-sativa y Venezuela 21 se localizaron 19 microsatélites polimórficos, donde el 21,06% (4) de los SSR se encuentran en el cromosoma 2 y el 15,78% (3) de los marcadores se hallaron en los cromosomas 6 y 9. Este bajo polimorfismo encontrado entre estos progenitores, posiblemente sea debido a que ambas variedades presentan un ancestro común, ya que ambas provienen del CIAT y el FLAR, tal como lo registra Pieters *et al.* (2011). Mientras que para Cimarrón y Bluebonnet 50, se identificó que el 19,36% de los SSR se ubicaron en el cromosoma 2, seguido por un 12,9% de los marcadores ubicados en los cromosomas 1, 3 y 9. Entre los parentales Zeta 15 y Venezuela 21, se apreció que el 42,85% de los microsatélites evaluados, se ubicaron en el cromosoma 2, el resto de los marcadores ubicado en los cromosomas 1, 4, 6 y 9.

Cuadro 2. Porcentaje de microsatélites (SSR) polimórficos entre los cruce realizados.

Cruce	Progenitores	Nº SSR polimórficos	% SSR polimórficos
1	Zeta 15 x BlueBonnet-50	35	23,18
2	D-Sativa x Venezuela 21	19	12,58
3	Cimarrón x BlueBonnet-50	31	20,53
4	Zeta 15 x Venezuela 21	7	4,64

Cuadro 3. Número y porcentaje de microsatélites polimórficos entre los progenitores utilizados en los cruces y su distribución por cromosoma.

Nº cromosoma	Z15/BB50		Vzla21/Dsat		Cimarrón/BB50		Z15/Vzla 21	
	Nº SSR	% SSR	Nº SSR	% SSR	Nº SSR	% SSR	Nº SSR	% SSR
1	3	8,57	1	5,26	4	12,9	1	14,28
2	9	25,71	4	21,06	6	19,36	3	42,85
3	5	14,29	1	5,26	4	12,9	0	0
4	1	2,85	1	5,26	2	6,45	1	14,28
5	1	2,85	1	5,26	2	6,45	0	0
6	1	2,85	3	15,78	0	0	1	14,28
7	3	8,57	1	5,26	2	6,45	0	0
8	1	2,85	1	5,26	1	3,23	0	0
9	3	8,57	3	15,78	4	12,9	1	14,28
10	1	2,85	0	0	1	3,23	0	0
11	4	11,43	2	10,53	3	9,67	0	0
12	3	8,57	1	5,26	2	6,45	0	0
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>	<b>19</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>7</b>	<b>100</b>

Z15= Zeta 15; BB-50= BlueBonnet-50; Vzla21= Venezuela 21; Dsat= D-Sativa.

El polimorfismo encontrado entre los materiales y los testigos de resistencia y susceptibilidad, Makalioka y Bluebonnet 50, respectivamente, permitió determinar el grado de disimilitud existente entre ellos.

El análisis de agrupamiento UPGMA con distancia Dice, generó tres grupos (ver Figura) y una correlación cofenética de 0,87 para este estudio intraespecífico. El primer grupo constituido por Bluebonnet 50; el segundo grupo por D-Sativa, Cimarrón, Venezuela 21 y Zeta 15 y el último grupo por Makalioka. Los coeficientes de similitud de los grupos fueron 0,55; 0,74 y 0,66, respectivamente.

Se observó, claramente la separación en la formación de los grupos para las diferencias entre resistencia y susceptibilidad, específicamente para Makalioka y Bluebonnet 50. Dichos genotipos, se

ubicaron en dos grupos distintos con una distancia genética de 0,55; y por ello, las variedades comerciales venezolanas quedaron clasificadas en un mismo grupo, lo que confirma la estrecha variabilidad genética entre ellos. (Angulo *et al.*, 2006; Arnao *et al.*, 2007, Arnao *et al.*, 2008; Pérez-Almeida *et al.*, 2011a; 2011b).

La importancia de este estudio radicó en que se demostró la asociación entre microsatélites y resistencia al daño mecánico por sogata, al igual que la encontrada por Tohme (2010) quien identificó los microsatélites asociados a la resistencia a hoja blanca y el daño mecánico a sogata, mencionando que los mismos, se ubicaban en la mayoría de los casos en los cromosomas 4, 5 y 7; sin embargo, en este trabajo, se observó la presencia de al menos un marcador polimórfico en esos cromosomas.

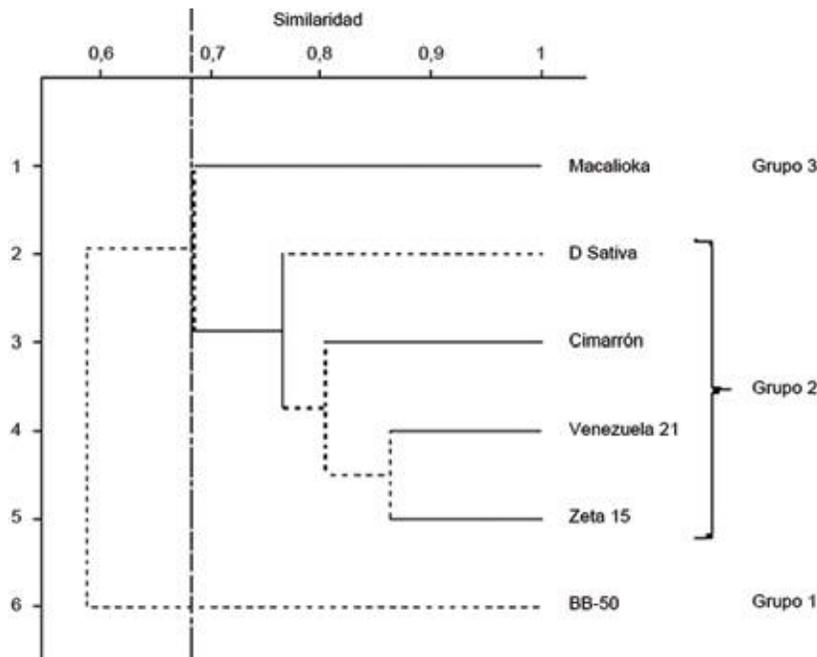


Figura. Dendrograma del análisis de agrupamiento UPGMA para seis cultivares de arroz, distancia genética de Dice.

## CONCLUSIONES

La aplicabilidad de marcadores moleculares microsatélites representa una herramienta confiable en el estudio de la diversidad genética del arroz. El análisis de diversidad genética entre los cultivares de arroz mostró grupos con variabilidad genética estrecha. En el análisis de agrupamiento se evidenció la separación entre genotipos resistentes, de los susceptibles al daño mecánico por sogata.

La estrategia de marcadores moleculares microsatélites permitió identificar el polimorfismo entre los cruzamientos de genotipo de arroz resistentes y susceptibles. Este estudio puede ser la base para futuros trabajos de mapeo genético, grupos de ligamientos y asociación de microsatélites con características fenotípicas, relacionadas al daño mecánico por sogata.

## LITERATURA CITADA

- los cultivares de arroz de riego liberados en Venezuela. *Agronomía Trop.* 57(3):197-204.
- Álvarez R., C. Gamboa, M. Triana, M. Duque y J. Silva. 2000. Mecanismo de resistencia a *Tagasodesorizicolus* Muir (Homoptera: Delphacidae) de tipo antibiótico y no preferencia en algunas líneas de arroz (*Oryza sativa* L.). *Investigación Agrícola* N° 5:1-12.
- Angulo L., C. Ramis, M. Perdomo e I. Pérez-Almeida. 2006. Estudio de la Base Genética de las variedades de arroz de Venezuela a través de microsatélites. Trabajo presentado en el IX Congreso Latinoamericano de Botánica. Santo Domingo-República Dominicana.
- Arnao E., A. Vegas, Z. Gutiérrez y C. Marín. 2003. Estandarización de la técnica de PCR para la caracterización genética de una población Venezolana de *Pyricularia grisea*. *Fitopatol. Venez.* 16:3-7.
- Acevedo M., E. Torres, O. Moreno, R. Álvarez, O. Torres, W. Castrillo, G. Torrealba, E. Reyes, M. Salazar y M. Navas. 2007. Base genética de
- Arnao E., N. Rodríguez, P. Hinrinsen, Y. Jayaro, C. Ramis e I. Pérez-Almeida. 2007. Evaluación de la diversidad genética de subespecies de

- arroz usando marcadores microsatélites y AFLP. *Agronomía Trop.* 57(1):45-50.
- Arnao E., Y. Jayaro, P. Hinrinsen, C. Ramis, C. Marín e I. Pérez-Almeida. 2008. Marcadores AFLP en la evaluación de la diversidad genética de variedades y líneas élites de arroz en Venezuela. *Interciencia.* 33(5):359-364.
- Fondo Latinoamericano de Arroz de Riego (FLAR). 1996. Un método simplificado para cruzamientos en arroz. Manual Técnico. CIAT, Colombia. 35 p.
- Hammer, O., D. A. Harper and P. D. Ryan. 2001. Past Paleontological Statistics Software Package for Education of Data Analysis. Versión 1.42. *Paleontología Electrónica.* 4:1-9.
- Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). 2005. Programa de arroz. Disponible en: [www.inia.gob.ve](http://www.inia.gob.ve). [Jul. 15, 2005].
- Jennings P. R., W. R. Coffman y H. Kauffman. 1981. Mejoramiento de Arroz. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Colombia. 237 p.
- McCough S., X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y. Cho, N. Huamg, T. Ishii and M. Blair. 1997. Microsatellites marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology.* 35:89-99.
- Pérez-Almeida I., E. Torres, L. Angulo y M. Acevedo. 2011a. Diversidad genética entre cultivares de arroz de Venezuela con base a la estimación del coeficiente de parentesco y análisis con marcadores moleculares microsatélites (SSR). *Interciencia.* 36(7):545-551.
- Pérez-Almeida I., L. Angulo, G. Osorio, C. Ramis, A. Bedoya, R. Figueroa-Ruiz, S. Molina e I. Diógenes. 2011b. Método modificado de obtención de ADN genómico en orquídeas (*Cattleya* spp.) para amplificación con marcadores moleculares. *Bioagro.* 23(1):27-34.
- Picca A. M., N. Helguera, A. Salomón y A. Carrera. 2004. Marcadores Moleculares en Biotecnología y Mejoramiento Genético Vegetal. Editores Echenique, V., C. Rubinstein y L. Mogridki. Ediciones INTA. Argentina. 462 p.
- Pieters A., E. Graterol, E. Reyes, R. Álvarez y A. González. 2011. Cincuenta años de mejoramiento de arroz en Venezuela. ¿Que se ha logrado? *Interciencia.* 36(12):943-948.
- Remes M. 2001. *Tagosodes orizicolus* (Muir, 1926) vector del virus de la hoja blanca del arroz (HBV) en la República Argentina (Homoptera-Delphacidae). *Rev. Fac. Agronomía La Plata.* 104(2):151-156.
- Risterucci A., L. Grivet, J. Goran, I. Pieretti, M. Flamet and C. Lanaud. 2000. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theoretical and Applied Genetics.* 101:948-955.
- Triana M., I. Lozano, L. Calvert, R. Meneses y C. Martínez. 2004. Marcadores moleculares asociados con la resistencia a *Tagosodes orizicolus* (Muir). Disponible en línea: <http://www.CIAT.cgiar.org>. [Jul. 20, 2005].
- Tohme J. 2010. Las perspectivas desde la genómica hacia la reconstrucción del genoma del arroz. XI Conferencia Internacional del Arroz. CIAT. Cali-Colombia. Resúmenes. 45 p.
- Vivas C. L. y D. Astudillo. 2008. Enfermedades virales transmitidas por la familia Delphacidae con énfasis en el insecto sogata (*Tagosodes orizicolus*). *INIA Hoy.* 1:1-19.



## Sensibilidad *in vitro* de *Mycosphaerella fijensis* Morelet a fermentos de raquis de plátano y fungicidas

### *In vitro* sensitivity of *Mycosphaerella fijensis* Morelet to rachis ferments of plantain and fungicide

Yvo Hernández González<sup>1\*</sup>, Claudia Paredes Niño<sup>1\*</sup> y Harvey Cárdenas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Experimental Sur del Lago "Jesús María Semprúm" (UNESUR). Laboratorio de Biotecnología de Santa Bárbara, estado Zulia. Venezuela.

<sup>2</sup>Centro Internacional del Plátano (CIPLAT). El Chivo, estado Zulia. Apdo. Postal 5101. Correos electrónicos: yvo333@hotmail.com\*; paredes@unesur.edu.ve\*

#### RESUMEN

La sigatoka negra es una de las enfermedades más dañina que ataca al cultivo del plátano. Con el propósito de evaluar la sensibilidad *in vitro* del hongo que la causa a extractos de raquis de plátano 'Hartón', se realizó un ensayo en la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR) y el Centro Internacional del Plátano (CIPLAT). Se prepararon medios agar-agua (16%) con los fermentados de raquis (2 y 4 meses) y dos fungicidas (benzimidazol y propiconazol), usando 6 placas de Petri por tratamiento y 5 muestras foliares enfermas de 2 cm<sup>2</sup> por placa, colocadas en cámara húmeda durante 48 horas e incubados por 1 hora a 26 °C en oscuridad. Se evaluó el número de esporas germinadas y no germinadas, número de hifas cortas, distorsionadas, largas y longitud de las hifas largas. A cada extracto se le determinó su composición química y mineral. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva realizando una prueba de comparación de medias (ANAVAR). Los resultados demostraron una falta de sensibilidad del hongo a los diferentes fungicidas químicos, mientras que en los fermentos se observó una mayor inhibición de la germinación o crecimiento del patógeno. El análisis químico de los extractos mostró la presencia de la mayoría de los nutrientes como el potasio, y de saponinas que pueden inhibir el crecimiento del patógeno; y de la mayoría de los nutrientes como el potasio. Por tanto, los fermentos de raquis de plátano pueden controlar a *Mycosphaerella fijensis* Morelet en condiciones *in vitro*, por lo que se debe evaluar su efectividad en condiciones de campo.

**Palabras clave:** sigatoka negra, plátano, resistencia, patógeno, eficiencia.

#### ABSTRACT

Black Sigatoka is one of the most damaging disease that attacks plantain cultivation. In order to evaluate the *in vitro* susceptibility of the fungus to horn plantain rachis ferments, a trial was conducted at the Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR) and the Centro Internacional del Plátano (CIPLAT), Venezuela. Media agar-water (16%) were prepared with rachis ferments, 2 and 4 months old, and two fungicides (propiconazole and benzimidazole), using six Petri dishes per treatment and five leaf samples of 2 cm<sup>2</sup> per dish, placed in a humid chamber for 48 hours, and incubated for 1 hour at 26 °C in darkness. Number of germinated and not germinated spores were counted, as well as, the number of short, distorted, long hyphae and length of long hyphae. It was determined the chemical and mineral composition of each extract. Data were analyzed using descriptive statistics making a comparison test of means (ANOVA). The results showed a lack of sensitivity of the fungus to different chemical fungicides used, while in the presence of ferments there was greater inhibition of germination and growth of the pathogen. Chemical analysis of the extracts showed the presence of most of nutrients, such as potassium, and saponins that can inhibit growth of the pathogen. These results demonstrated that the ferments of plantain rachis can control *Mycosphaerella fijensis* Morelet *in vitro* conditions, therefore their effectiveness should be evaluated under field conditions.

**Key words:** sigatoka negra, plantain, resistance, pathogen, efficiency.

## INTRODUCCIÓN

La sigatoka negra, causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijensis* Morelet (Nava, 1997; Pineda *et al.*, 1997), es catalogada como una de las enfermedades más serias que ataca al cultivo del plátano, siendo ésta, más virulenta que la sigatoka amarilla (Martínez *et al.*, 1997).

Entre los años 2010 y 2012, los últimos territorios libres en el mundo de sigatoka negra, ubicados en las islas del Caribe: Martinica, Dominicana y Guadalupe (Antillas francesas) fueron invadidos por la enfermedad, causando gran incertidumbre entre los productores y cerrando el círculo de una de las epifitas más importantes en la historia de las musáceas en el último siglo (Guzmán *et al.*, 2013).

La característica de mayor virulencia de la sigatoka negra, se manifiesta por una alta capacidad esporulativa, con ciclos reproductivos más cortos y elevada severidad, en las cuales el hongo penetra por los estomas de las mismas (Borges, 1971). El primer síntoma de la enfermedad en forma general, aparece en el haz del limbo en forma de manchas longitudinales de un color amarillo pálido o marrón oscuro en el envés del limbo de 1 a 2 mm de largo, que aumentan de tamaño formando lesiones necróticas con halos amarillos y centros gris claro, ocasionando una disminución en la producción por la violenta reducción del área foliar, y por consiguiente, de la capacidad fotosintética de las plantas (Martínez *et al.*, 1997).

Por tal razón, los productores han implementado programas de control más continuos y una mayor utilización de agroquímicos (Orosco *et al.*, 2013). Es evidente que mientras más aplicaciones de productos se realicen, incidirá negativamente en los costos de producción, mayor contaminación ambiental y posiblemente inducirá a la resistencia del hongo a estos biocidas (Madrigal y Ruess, 1998; Beveraggi *et al.*, 1995).

En los últimos años los productores de plátano en la zona sur del Lago de Maracaibo, han implementado de forma empírica técnicas para controlar esta enfermedad, como el uso de fermentos o exudados de la fermentación del raquis del mismo cultivo como un producto capaz de reducir el crecimiento del patógeno en la plantación. Dado que este exudado, aparentemente tiene

algún efecto fungicida contra la sigatoka negra, es utilizado en diferentes concentraciones y en combinaciones con otros fungicidas comerciales (Álvarez *et al.*, 2010).

Es por ello que, la presente investigación tiene como finalidad determinar bajo condiciones *in vitro*, el efecto y composición del exudado fermentado de raquis de plátano y fungicidas sobre el crecimiento del hongo causante de la enfermedad conocida como sigatoka negra.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de muestras foliares de plátano con sigatoka negra

En la plantación de plátano (*Musa* AAB cv. Hartón) ubicada en el Centro Internacional del Plátano (CIPLAT), en la población El Chivo, municipio José Javier Pulgar del estado Zulia, fueron colectadas muestras foliares infectadas con *M. fijensis*, grado 5-6 (Mateus *et al.*, 1987): tejido blanco a gris, libres de un período de precipitaciones de 2 días y aplicaciones de fungicidas de al menos 30 días, procedentes de plantas jóvenes con 8 a 10 hojas funcionales.

De las muestras de hojas se tomaron fragmentos en las áreas de avance de la enfermedad, sin escoger el tejido muerto por senescencia, muerte mecánica de la hoja u otro factor que no sea originado por el hongo causante de la sigatoka negra. Luego, con la ayuda de una lupa estereoscópica, se seleccionaron fragmentos que contuvieran pseudotecios maduros con capacidad esporulante, dejándolos secar a temperatura ambiente por 24 horas.

Cada fragmento se seccionó en cuadros de 2 x 2 cm y se dispuso de cinco cuadros de la muestra foliar en papel de filtro estéril, sosteniéndose con grapas la superficie adaxial expuesta, sin que los trozos quedaran muy cerca de los bordes del papel y colocándose en una cámara humedecida con agua destilada estéril por 48 horas (Mateus *et al.*, 1987).

### Prueba de sensibilidad *in vitro*

La prueba de sensibilidad fue realizada en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad

Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR), latitud norte 8°51'50" y longitud este 71°35'24". Para ello se tomaron fermentos de raquis (realizados a través de tallos de plátanos cortados en cuatro o cinco partes), elaborados en el CIPLAT que tenían 2 y 4 meses de fermentación (E2 y E4), contenidos en tanques de agua con capacidad de 5.000 litros, y dos fungicidas comerciales a base de benzimidazol y propiconazol.

Los fermentos y fungicidas se dispensaron en placas de petri, agregándolos en un medio agar-agua al 16% previamente autoclavados a 120 °C por 20 min a 15 libras de presión en diferentes concentraciones 0,06; 0,12; 0,25; 0,5 y 1 ml l<sup>-1</sup> para los fermentos y 0,001; 0,01; 0,1; 1 y 5 mg l<sup>-1</sup> o ppm de ingrediente activo para los fungicidas, y un tratamiento testigo con tres repeticiones para cada uno, con un total de 21 tratamientos.

Las muestras foliares fueron sacadas de la cámara húmeda y colocadas en placas de petri con los diferentes tratamientos durante 1 h en incubación a 26 °C y en oscuridad, para lograr la descarga de las ascosporas. A cada placa se le determinó, a través de observaciones al microscopio óptico tipo Leica® a 40X, esporas germinadas y no germinadas.

De las germinadas se contabilizaron aquellas con tubos cortos, tubos largos y distorsionados, determinando solamente la longitud de las esporas con tubos largos en  $\mu\text{m}$  (Sepulveda y Arango, 2013).

### **Determinación de minerales y metabolitos secundarios**

Con el propósito de determinar la composición mineral de los fermentos de raquis de plátano de E2 y E4, y de metabolitos secundarios que pudieran ejercer algún efecto inhibitor del crecimiento del hongo causante de la sigatoka negra, se realizaron dos análisis de laboratorio en la Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado (UCLA).

El primero de los análisis se efectuó en el laboratorio de suelos, donde se cuantificaron los elementos fósforo (P) por colorimetría ultravioleta en solución vanadio-molíbdica; nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe), manganeso (Mn)

y boro (B), por espectrofotometría de absorción atómica. La determinación de metabolitos secundarios, se realizó en el laboratorio de Microtécnica e Histología Vegetal, a través del método por cromatografía de capa fina (TLC).

### **Análisis estadístico**

Los valores obtenidos fueron analizados a través del programa estadístico SAS, aplicando una estadística descriptiva ANAVAR, realizando pruebas de separación de medias Tukey ( $P \leq 0,05$ ) a las variables.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el tratamiento testigo se pueden observar diferencias altamente significativas con respecto a los demás tratamientos a base de fungicidas comerciales (Cuadro 1), lo cual demuestra que el medio realizado para el crecimiento del hongo fue adecuado. Asimismo, mostró un alto crecimiento en cuanto al número de esporas germinadas y a la longitud de sus tubos de hifas largas (más de 50  $\mu\text{m}$ ), formándose redes intrincadas de tubos, que en algunos campos del microscopio no permitían apreciar su número y longitud. No se detectaron tubos de hifas distorsionadas, ni esporas sin germinar.

Por su parte, para los tratamientos con fungicidas químicos, los resultados del análisis estadístico no evidenciaron diferencias significativas para la variable número de esporas germinadas, lo cual es indicativo de una clara pérdida de sensibilidad del hongo a las diferentes diluciones de los fungicidas utilizados, observándose que en todas las concentraciones se encontraron más de 40 esporas germinadas (promedio) por cada campo de observación. Sin embargo, en el grupo de fungicidas a base de benzimidazoles, se pudo detectar la presencia de más micelios de hifas largas que distorsionadas (Cuadro 1).

Los datos demuestran claramente que en condiciones *in vitro*, a pesar de que el análisis estadístico no mostró diferencias significativas, se observó una mayor resistencia del patógeno para este grupo de fungicidas; ya que, en concentraciones más bajas (0,01 y 0,001 ppm), aumentaron los valores de germinación y desarrollo del micelio del hongo.

Cuadro 1. Sensibilidad *in vitro* de *Mycosphaerella fijensis* en diferentes concentraciones de fungicidas.

Tratamiento	Número de esporas no germinadas	Número de esporas germinadas	Número de hifas cortas	Número de hifas largas	Número de hifas distorsionadas	Longitud de hifas largas (µm)
5 ppm Benc.	3	47 b	1	28	18	40,00 b
1 ppm Benc.	9	41 bc	0	27	14	27,22 c
0,1 ppm Benc.	1	49 b	3	36	10	23,33 c
0,01 ppm Benc.	2	48 b	0	43	0	46,29 b
0,001 ppm Benc.	0	50 b	0	50	0	50> a
5 ppm Prop.	0	50 b	49	0	1	0,00 e
1 ppm Prop.	0	50 b	0	50	0	18,10 d
0,1 ppm Prop.	0	50 b	49	0	1	0,00 e
0,01 ppm Prop.	7	43 bc	41	0	2	0,00 e
0,001 ppm Prop.	4	46 b	3	43	0	25,00 c
Testigo	0	50> a	0	50>	0	>50 a

Benc: bencimidazol; Prop: propiconazol. Letras distintas verticalmente indican diferencias significativas, prueba Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

En los tratamientos de mayor dilución del fungicida (0,01 y 0,001 ppm) y en los benzimidazoles, no se registró la presencia de hifas cortas o distorsionadas y pocas esporas no germinadas. De forma similar, en los tratamientos a base de propiconazol y a la misma concentración, pocas fueron las hifas cortas observadas.

Si en condiciones controladas del laboratorio, donde las esporas del hongo hacen contacto directo con los medios a base de fungicidas, se observó una resistencia del patógeno a estos biocidas, se podría inferir que el hongo tendría una mayor probabilidad de sobrevivencia en las plantaciones de plátano bajo un ambiente natural no controlado y con una eficiencia de aplicaciones de fungicidas cercanas al 100%. Además, la resistencia del hongo a biocidas, debido a la poca rotación de grupos químicos que actúan como fungicidas, aumenta en el transcurso de los años, lo que agrava más el problema. Lo anterior se ha reportado en banano, en el cual, aplicaciones de fungicidas a base de Triazol para el control de sigatoka negra, provoca la resistencia del hongo a este fungicida (Ruiz *et al.*, 2013).

Aunque no se encontró diferencias estadísticas para la variable esporas germinadas entre ambos grupos de fungicidas, los tratamientos a base de propiconazol presentaron mayor resistencia del hongo que en lo encontrado para los bencimidazoles, observándose que en los tratamientos con mayor concentración del fungicida (5,0 a 1,0 y 0,1 ppm), todas las esporas estaban germinadas y con pocos tubos distorsionados. No obstante, se hallaron tubos largos y cortos de longitud menor a los 30 µm. Efecto contrario para este mismo fungicida, se observó en las concentraciones más bajas, en la que se detectaron pocas esporas no germinadas. En el tratamiento con menor dilución del fungicida (0,001 ppm) de 46 esporas germinadas, 43 presentaban tubos largos.

En el caso de los fermentos (Cuadro 2), se pudo observar, que en general todos los tratamientos presentaron menor cantidad de esporas germinadas en el medio, si se comparan con los fungicidas químicos. Asimismo, en aquellos tratamientos, el fermento de raquis de plátano donde lograron germinar las esporas, en su mayoría presentaba tubos cortos y de longitudes menores a los 25 µm.

Cuadro 2. Sensibilidad *in vitro* de *Mycosphaerella fijensis* en diferentes concentraciones en fermentos de raquis de plátano.

Tratamiento	Número de esporas no germinadas	Número de esporas germinadas	Número hifas cortas	Número de hifas largas	Número de hifas distorsionadas	Longitud de hifas largas ( $\mu\text{m}$ )
1 ml l <sup>-1</sup> E2	50	0 d	0	0	0	0,00 d
1 ml l <sup>-1</sup> E4	50	0 d	0	0	0	0,00 d
0,5 ml l <sup>-1</sup> E2	28	22 c	0	0	22	0,00 d
0,5 ml l <sup>-1</sup> E4	25	25 c	22	0	3	0,00 d
0,25 ml l <sup>-1</sup> E4	50	0 d	0	0	0	0,00 d
0,25 ml l <sup>-1</sup> E2	50	0 d	0	0	0	0,00 d
0,12 ml l <sup>-1</sup> E2	0	50 a	3	46	1	20,00 b
0,12 ml l <sup>-1</sup> E4	50	0 d	0	0	0	0,00 d
0,06 ml l <sup>-1</sup> E2	17	33 b	13	20	0	12,85 c
0,06 ml l <sup>-1</sup> E4	28	22 c	22	0	0	9,65 c
Testigo	0	50> a	0	50>	0	>50 a

Letras distintas verticalmente indican diferencias significativas, prueba Tukey ( $P \leq 0,05$ ). E2 y E4: extracto de 2 ó 4 meses de fermentación.

Se demuestra que para *M. fijensis*, la mayor capacidad de infección está relacionada a una mayor longitud del tubo germinativo de la hifa (Sepulveda y Arango, 2013), por lo cual, la presencia de tubos cortos es un indicativo de sensibilidad del hongo al ingrediente activo.

Los tratamientos a base del fermento de raquis de plátano de cuatro meses (E4) y dos meses (E2) de descomposición, conformaron un grupo estadísticamente igual para la variable esporas no germinadas en las diluciones 1 ml l<sup>-1</sup>, 0,25 ml l<sup>-1</sup> y solo para la concentración 0,12 ml l<sup>-1</sup> en el E4, siendo los mejores tratamientos para la inhibición del crecimiento del hongo en condiciones *in vitro*.

Esto podría indicar que elaborar en la práctica los fermentos a base de raquis de plátano, se puede dejar durante 2 ó 4 meses de fermentación, para obtener exudados que garanticen mayor control del hongo en campo. También, es importante

considerar que en E2 se encontró mayor cantidad de saponinas (Cuadro 3), compuestos con propiedades antifúngicas que puedan garantizar una mayor efectividad del producto en campo contra el patógeno.

Otro de los aspectos que pudiera incrementar la efectividad del control contra la sigatoka negra, es la combinación de fungicidas químicos con los fermentos producidos de raquis de plátano. En banano por ejemplo, se logró el control efectivo contra la sigatoka negra, utilizando lixiviados del raquis de este cultivo (20 l ha<sup>-1</sup>), más un fungicida protector (mancozeb, a razón de 0,8 i.a. kg ha<sup>-1</sup>), comprobando que esta combinación tiene un impacto benéfico en el aspecto ambiental, al disminuir las dosis de los fungicidas sintéticos; y económico, por su fácil preparación y obtención con materia prima de la misma unidad de producción (Martínez *et al.*, 2013).

Cuadro 3. Metabolitos secundarios presentes en muestras de fermentos de raquis de plátano con extractos de 2 (E2) y 4 (E4) meses de fermentación.

Metabolitos secundarios	E2	E4
Saponinas (mg ml <sup>-1</sup> )	39,38	21,33
Alcaloides (trazas)	Presentes	Presentes
Fenoles totales	No detectados	No detectados
Aceites esenciales	No detectados	No detectados

### Metabolitos secundarios presentes en el exudado de raquis de plátano

Una de las razones por las cuales los fermentos a base de raquis de plátano podrían controlar o actuar como biocida para la enfermedad, es su composición química (Martínez *et al.*, 2013). Los resultados del análisis (Cuadro 3), muestran la presencia de saponinas en mayor cantidad en E2 que en E4.

Las saponinas son glucósidos de esteroides o de terpenoides, tóxicos para las células, tienen propiedades parecidas a las del jabón; lo cual, puede romper las membranas celulares de las mismas (Lincoln y Zeiger, 2006). Por tanto, las saponinas pueden actuar negativamente en el desarrollo de hongos patógenos causantes de enfermedades como la sigatoka negra (Martínez *et al.*, 2013).

En cultivos como el trigo y el zapallo, aplicando 100 ppm de fermentos de saponinas obtenidas de la planta *Quillaja saponaria*, se logró controlar hongos patógenos como Oidios en un 43%, tanto como en las aplicaciones de fungicidas químicos a base de propiconazol y azoxystrobinum (Moya *et al.*, 2010). De igual forma, combinaciones de fermentos de raquis de plantas de *Musa* y de fungicidas químicos, pueden tener un control efectivo contra sigatoka negra (Martínez *et al.*, 2013).

Otros de los compuestos detectados en el fermentado de raquis de plátano, que pudo afectar el crecimiento del hongo, son los alcaloides hallados en cantidades trazas. Además que, no se encontraron fenoles ni aceites esenciales.

Durante la fermentación de los raquis, muchos microorganismos segregan metabolitos secundarios capaces de actuar como biocidas en otros microorganismos. Por ejemplo, *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*, tienen la capacidad de producir metabolitos (enzimas quinolíticas y glucanolíticas) que alteraron la estructura de la pared celular del micelio y las ascosporas de hongos que inhibieron en condiciones *in vitro*, el desarrollo de microorganismos patógenos (Ceballos *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos en el análisis bromatológico de los fermentos (Cuadro 4), muestran la presencia de elementos minerales que van desde los macros y microelementos (N, P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Na y B). El elemento K se encontró en cantidades de 1,28%, un tercio más bajo que para la norma desarrollada del plátano (4,49%) en tejido foliar, lo cual aporta a las plantas una buena cantidad de un elemento de gran importancia para el cultivo, ya que puede llegar a extraer del suelo hasta 400 kg ha año<sup>-1</sup> (Rodríguez y Rodríguez, 1997). Lo anterior se ha observado en fermentos de raquis de banano, en concentraciones de 7.000 ppm, lo cual indica que estos son una fuente nutricional de K aplicable por vía foliar. De la misma forma, el B se mostró en cantidades moderadas (Martínez *et al.*, 2013).

No se detectó Cu en los resultados del análisis bromatológico, lo cual indica que los fermentos carecen de este elemento. En estudios realizados en fermentos de raquis de banano, a pesar de haberse detectado la presencia del elemento Cu, este se presentó en cantidades muy bajas con respecto a los demás elementos minerales (Martínez *et al.*, 2013).

Cuadro 4. Composición mineral de los fermentos a base de raquis de plátano con extractos de 2 (E2) y 4 (E4) meses de fermentación.

Fermentos	Elementos minerales											pH
	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	Na %	Zn ppm	Fe ppm	Mn ppm	B ppm	CE ds/m	
E2	0,02	0,02	1,28	0,08	0,09	0,0001	0,2	0,62	0,02	17	>12	8,99
E4	0,01	0,02	1,38	0,07	0,06	0,0001	0,24	0,67	0,02	20	>12	9,21

Todos los nutrientes presentes en el fermento aplicado por vía foliar, podrían brindar a las plantas una buena fuente de elementos necesarios para su nutrición, contribuyendo al crecimiento y desarrollo de la planta y quizás a desarrollar resistencia al ataque de sigatoka y otras enfermedades que pudieran afectar las hojas de este cultivo. También, ahorrar en fertilizantes foliares, cuando se realizan las aplicaciones aéreas de fungicidas químicos para el control de sigatoka negra.

A pesar de que el crecimiento del hongo en condiciones *in vitro* E4 respecto al E2 fueron distintos, en los análisis bromatológicos para ambos fermentos se observaron similitudes referente a los valores en la composición mineral y conductividad eléctrica (Cuadro 4). Solo se observó un pH más alto de 9,21 en E4 que en el E2 con 8,99. Este valor más básico podría estar limitando el crecimiento y desarrollo del hongo en el medio de cultivo y quizás en las hojas al aplicarlo en condiciones de campo.

En general, los fermentos a base de plátano podrían representar una alternativa económica y ecológica para el control de la sigatoka negra en campo, pudiéndose elaborar fácilmente de forma artesanal con los raquis de plátano de la misma unidad de producción. Además, la aplicación de estos fermentos podrían ofrecer una alternativa para disminuir las aplicaciones foliares, tanto en frecuencia como en cantidad de productos químicos que contaminan las zonas productoras de este rubro de gran importancia para nuestro país.

## CONCLUSIÓN

El hongo causante de la sigatoka negra *M. fijiensis* Morelet en condiciones *in vitro*, ha perdido sensibilidad a fungicidas químicos, tales como los benzimidazoles y propiconazoles. Mientras que con la utilización de fermentos a base de raquis de plátano, se observó una mayor inhibición de la germinación y crecimiento del hongo, lo que podría convertirse en una alternativa económica y ecológica para el control de esta enfermedad, si se manejara de forma integrada en las plantaciones del cultivo del plátano en el país.

## LITERATURA CITADA

- Álvarez E., J. Cortes y G. Ceballos. 2010. "Alternativas para el manejo de la sigatoka negra en plátano Dominico Hartón (AAB) mediante el uso de lixiviados y productos biológicos". In: Boletín Musalac. 1(2):3-5.
- Beveraggi A., M. F. Zapater y X. Mourichon. 1995. Análisis de la resistencia de los bananos a la sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* (*Cercospora fijiensis*). CIRAD-CA. Montpellier (FRA). Extraído de Referencias bibliográficas Musa Doc- 1999, sobre bananos y plátanos de las Memorias XIII Reunión ACORBAT, Guayaquil, Ecuador. pp. 6-11.
- Borges O. L. 1971. Tamaño y densidad de estomas en clones cultivados y especies silvestres de *Musa*. *Agronomía Trop.* 21(2):139-143.

- Ceballos I., S. Mosquera, M. Angulo, J. Mira, L. Argel, D. Uribe, M. Romero, S. Orduz and V. Villegas. 2012. Cultivable bacteria population associated with leave of banana and plantain and their antagonistic activity against *Mycosphaerella fijiensis*. Environmental Microbiology. May. DOI 10.1007/s00248-0212-0052-8.
- Guzmán M., M. Orozco-Santos y L. Pérez Vicente. 2013. Las enfermedades sigatoka de las hojas del banano: Dispersión, impacto y evolución de las estrategias de manejo en América Latina y el Caribe. In: XX Reunión ACORBAT 2013; Fortaleza, Brasil. Memoria BR. pp. 98-116.
- Linconl T. and E. Zeiger. 2006. Secondary metabolites and plant defense. Plant Physiology. Fourth Edition. Sinzuer Asociado. Cap 13.
- Madrigal A. y W. Ruess. 1998. CGA245704 un nuevo activador de plantas para aumentar la resistencia natural del cultivo del banano contra sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Extraído de Referencias bibliográficas sobre bananos y plátanos de las Memorias XIII Reunión ACORBAT, Guayaquil, Ecuador. pp. 266-274.
- Mateus J., M. Mayorga y B. Ramírez. 1987. Guía para el laboratorio para el manejo de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) ICA. Colombia. 27 p.
- Martínez G., R. Pargas y D. Muños. 1997. "La sigatoka negra y su avance en el territorio venezolano: implicaciones socioeconómicas". Disponible en: <http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd59/sigatok.html> [Nov. 29, 2013]
- Martínez L., D. Teliz, S. Balalcazar, J. Cortés, D. Nieto, L. Mora, J. Rodríguez y B. Canche. 2013. Efecto de lixiviados del raquis en el crecimiento, nutrición y sanidad del cultivo del banano. In: XX Reunión ACORBAT 2013 Fortaleza, Brasil. Memoria. 160 p.
- Moya E., R. Gamboa y G. Apablaza. 2010. Evaluación de un fermentos de saponina de *Quillaja saponaria* para el control de *Oidios* de trigo y zapallo. Rev. Agro Sur. Valdivia. 38(2):87-96.
- Nava C. 1997. El plátano, su cultivo en Venezuela. Ediciones Astro Data. Maracaibo. 122 p.
- Orosco S., K. García Mariscal, G. Manzo-Sánchez, S. Guzmán, L. Martínez, M. Beltrán, E. Garrido, J. Torres y B. Canto. 2013. La sigatoka negra y su manejo integrado en banano. Libro técnico N° 1. SARGAPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima México. 153 p.
- Pineda J., A. Carrasco, R. Cardona y R. Cooz. 1997. Presencia de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en las principales zonas plataneras de Venezuela. Bioagro. 9(2):52-60.
- Ruiz J., D. Egred, P. Bryant y T. Dougherty. 2013. Evaluación *in vitro* del efecto del Biofungicida Ausoil 23 Ec™ en mezcla con fungicida del grupo de los triazoles sobre poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* con pérdida de sensibilidad ante fungicidas comerciales. Memorias del XX ACORBAT 2013. Fortaleza, Brasil. 275 p.
- Rodríguez V. y O. Rodríguez. 1997. Normas foliares DRIS para el diagnóstico nutricional del plátano (*Musa* AAB subgrupo plátano cv. Hartón). Rev.Fac. Agron (LUZ) 14:285-296.
- Sepúlveda L. y R. Arango. 2013. Comportamiento fenotípico *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis* y su relación con la sensibilidad a fungicidas. Memorias del XX ACORBAT 2013. Fortaleza, Brasil. 295 p.

## Caracterización anatómica de plantas de arroz sometidas a condiciones de déficit hídrico y lámina de agua

### Anatomical characterization of rice plants under conditions of water deficit and water lamina

Rosalía Velásquez Salazar<sup>1\*</sup>, Félix García Ratia<sup>1</sup>, Diego Diamont Pérez<sup>2</sup>,  
María Perdomo Leiva<sup>1</sup> y Gelis Torrealba-Núñez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Agronomía.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigación Agrícola (INIA).

\*Correo electrónico: rvelasquezsalazar@gmail.com.

#### RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.), puede desarrollarse en suelos anegados o no. El objetivo del trabajo fue caracterizar los cambios anatómicos asociados a la adaptación a estrés hídrico, bajo dos condiciones de manejo del agua. Para esto, se evaluaron las variedades 'Fundarroz PN-1', 'Cimarrón', 'Fonaiap-2000' y cuatro líneas experimentales, trasplantadas en campo bajo dos condiciones, sin estrés (inundación) y con estrés (riego intermitente). Se tomaron muestras de hojas y raíces de cinco plantas a los 42, 63, 88 y 95 días después del trasplante. Las muestras se deshidrataron con alcohol terbutílico, embebidas en bloques de parafina, cortadas y teñidas con la técnica Safranina-Fatsgreen. Las observaciones y las mediciones se efectuaron con el programa MOTIC ver. 2.0. En la hoja se tomaron datos de tamaño de la nervadura central, número de espacios; número de haces vasculares (NHV) en la nervadura y en la lámina, y número de células buliformes; en las raíces se midió y anotó el número de vasos xilemáticos, disposición del aerénquima, engrosamiento de la endodermis y grosor de la capa que rodea la endodermis. Para identificar los caracteres anatómicos de mayor variación entre variedades y condiciones de riego, se utilizó estadística descriptiva. El NHV y engrosamiento de la endodermis fueron los caracteres que presentaron mayor variación, observándose un aumento en el NHV de primero y segundo orden bajo condiciones de estrés, siendo Fonaiap-2000 y Somaclone 2, los únicos con haces vasculares de tercer orden. Los cambios en el engrosamiento de la endodermis pudieran estar asociados a la tolerancia al déficit hídrico.

**Palabras clave:** *Oryza sativa* L., anatomía, estrés hídrico, lámina foliar, raíz.

#### ABSTRACT

The rice (*Oryza sativa* L.), can be grown in waterlogged soil or not. The anatomical characterization of rice under two water management conditions was the main objective of this research in order to observe changes associated with adaptation to water stress. The cultivars 'Fundarroz PN-1', 'Cimarrón', 'Fonaiap 2000' and 4 experimental lines were evaluated, transplanted in the field under two conditions, without stress (flooding) and stress (intermittent irrigation). Samples of leaves and roots of five plants at 42, 63, 88 and 95 days after transplantation were studied. Samples were dehydrated in tertiary butyl alcohol, embedded in paraffin blocks, cut and stained with Safranin-Fatsgreen technique. Observations and measurements were made with the program MOTIC 2.0. Collected data were: leaf and leaf central rib sizes, number of spaces, and numbers of vascular bundles (NVB) in the rib and blade, bulliformes cell numbers; in roots, number of xylem bundles, aerenchyma arrangement, and thickening of endodermis and thickness of the layer surrounding endodermis were measured. To identify the anatomical characters of greater variation among genotypes and irrigation conditions descriptive statistic was used. The NVB and thickening of the endodermis were the characters that showed greater variation, it was observed an increase of the NVB in first and second-order stress conditions. Fonaiap 2000 and Somaclone 2 were the only genotypes that showed third-order vascular bundles. Changes in the thickening of the endodermis could be associated with tolerance to water deficit.

**Key words:** *Oryza sativa* L., anatomy, water stress, leaf blade, root.

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela, el arroz (*Oryza sativa* L.) se cultiva principalmente bajo la modalidad de riego por inundación, sin embargo, se desarrolla bien en suelos no anegados. Las respuestas de tolerancia permiten el mantenimiento de la turgencia celular aún a potenciales hídricos foliares bajos; como consecuencia las plantas mantienen durante la baja disponibilidad de agua una actividad fotosintética reducida, capaz de soportar el crecimiento por un tiempo mayor (Chávez *et al.*, 2003; Araujo *et al.*, 2000; Chávez, 1991).

Asimismo la anatomía de la zona radical de las plantas se ve afectada durante el déficit hídrico, porque las raíces de las plantas aumentan el tejido aerenquimático para mayor difusión interna del oxígeno (Alfonso, 2006; Silva *et al.*, 1999).

Los estudios anatómicos de los órganos vegetativos, permiten determinar las posibles respuestas adaptativas de las plantas para hacer frente a medios estresantes. Bajo condiciones de estrés hídrico, la hoja generalmente presenta cambios en el tamaño de la nervadura central, número de haces vasculares (NHV), número y tamaño de las células buliformes; mientras que en la raíz se observó cambios en el grosor de la endodermis y exodermis, entre otras; como posibles mecanismos que confieren tolerancia a condiciones ambientales desfavorables sin afectar el rendimiento del cultivo de arroz (Diamont *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2003).

Considerando que el mejoramiento del cultivo de arroz en Venezuela, está dirigido hacia la obtención de plantas adaptadas a condiciones de menor suministro de agua, y ante la necesidad de evaluar el efecto que tiene una condición de déficit hídrico sobre los posibles cambios en los caracteres anatómicos de los cultivares de arroz y su influencia en el rendimiento, el presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar la anatomía de genotipos de arroz cultivados bajo condiciones de déficit hídrico y láminas de agua constante en Calabozo, estado Guárico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el campo experimental de la sede del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Guárico,

en los Bancos de San Pedro, Calabozo. Se utilizó semillas de siete genotipos de arroz: 'LO2' (WAB894-B-5A2-1-2-M), 'Somaclon-1' (CT10 310-15-3-2P-4-3-S4), 'Somaclon-2' (CT10 310-15-3-2P-4-3-S5), 'Somaclon-3' (CT10 310-15-3-2P-4-3-S40), 'Fundarroz PN-1' (CT10 310-15-3-2P-4-3), 'Cimarrón' y 'Fonaiap 2000'.

La siembra en campo se realizó por trasplante a las dos condiciones de riego: lámina de agua y déficit hídrico, 45 días después de las plántulas en semillero. La condición de estrés hídrico fue inducida durante todo el ciclo del cultivo, suspendiendo el riego hasta la aparición de síntomas de enrollamiento foliar, a partir del cual se aplicó riego hasta la capacidad de campo.

Posterior al trasplante, se realizaron cuatro muestreos durante el desarrollo del cultivo, seleccionando al azar cinco plantas por muestreo, genotipo y condición de riego. Las muestras fueron conservadas en una solución FAA 70% hasta el momento de su procesamiento. Los estudios anatómicos se efectuaron en el Laboratorio de Anatomía del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela (UCV), en Maracay.

Las muestras de raíz y hoja conservadas en FAA 70% (Roth, 1964) fueron cortadas en secciones transversales, tomando la parte media de la lámina foliar. Para el primero y segundo muestreo se seleccionó la última hoja expandida, mientras que para el tercero y cuarto muestreo se escogió la última hoja antes de la hoja bandera. Los segmentos de las raíces fueron obtenidos de muestras tomadas a 5 cm aproximadamente, por encima del ápice radical en cada muestreo, que se encontraban completamente desarrollados y en buen estado.

Las muestras fueron deshidratadas en una serie ascendente de alcohol terbutílico, luego embebidas en bloques de parafina y con la ayuda de un micrótopo rotativo se efectuaron cortes transversales de las mismas a un espesor de 10  $\mu$ . La tinción se llevó a cabo con la técnica de contraste Safranina-Fatsgreen (Esau, 1972; Roth, 1964). Las observaciones y registros fotográficos se realizaron en un microscopio de luz Marca Nikon, y las mediciones con el programa Motic ver. 2.0.

Se utilizaron los siguientes descriptores anatómicos para caracterizar las hojas y raíces de los siete genotipos bajo las dos condiciones de humedad del suelo: tamaño de la nervadura, número de espacios y NHV en la nervadura (primero, segundo y tercer orden), NHV en la lámina (primero, segundo y tercer orden) y número de células buliformes. En raíces: número de vasos xilemáticos, disposición del aerénquima, engrosamiento de la endodermis y capa que rodea la endodermis.

Con los datos obtenidos se procedió a analizar e identificar los caracteres anatómicos de mayor variación entre los genotipos y condiciones de riego, a través de la estadística descriptiva

(Jiménez, 2006), estimándose los valores mínimos y máximos, promedios, desviación estándar y coeficientes de variación, para cada genotipo en ambas condiciones de humedad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características anatómicas de nervadura y lamina foliar

De acuerdo a los resultados obtenidos en las mediciones del tamaño de nervadura para ambas condiciones de humedad del suelo, se observó que no hay una correlación significativa entre la evaluación realizada y las diferentes fechas de muestreo (Figura 1).

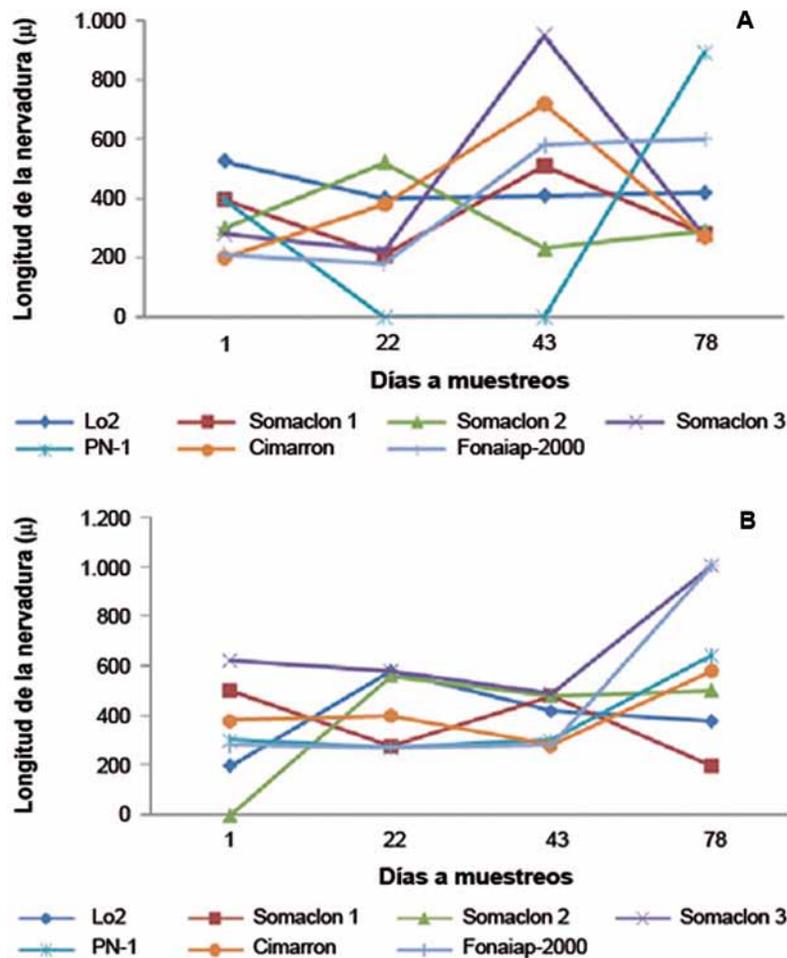


Figura 1. Tamaño de la nervadura central en hojas de siete genotipos de arroz; (A) con lámina de agua y (B) sin lámina de agua.

Esta variación en el comportamiento de los genotipos está sujeta a factores de tipo ambiental y genético, ya que existen fluctuaciones marcadas para cada uno de los genotipos en ambas condiciones de humedad.

En particular, la ausencia de homogeneidad dentro de los genotipos se debe a que los cultivares Somaclon 1, Somaclon 2 y Somaclon 3, provienen de un programa de inducción de variación somaclonal *in vitro* a partir de la variedad Fundarroz PN-1, lo que posibilita la variación expresada dentro de estos genotipos, que al igual que el cultivar LO2, proviene del cruzamiento con *Oryza glaberrima*. Sin embargo, Fonaiap-2000 y Cimarrón expresaron variaciones en el tamaño de la nervadura. Estas variaciones pudieran estar sujetas a la expresión del fenotipo por influencia del ambiente (Vega, 1988).

En la Figura 2 se observan los cambios que experimentaron los genotipos en el número de espacios aeríferos de la nervadura central. El aerénquima es un tejido común en plantas adaptadas a condiciones de inundación y los espacios aeríferos pueden variar dependiendo de las condiciones del suelo (Diamont *et al.*, 2007). En *Paspalum dilatatum* Poir se ha reportado que estos espacios pueden variar en cantidad y tamaño, disminuyendo el número de espacios y diámetro de los mismos, cuando las plantas son sometidas a condiciones de estrés hídrico (Vasellati *et al.*, 2001).

Estos resultados no son coincidentes con los encontrados en esta investigación, ya que se observaron respuestas contrastantes entre los genotipos en cada una de las condiciones de humedad, pudiendo estar asociado a la condición genética de cada material, como fue reportado por Diamont *et al.*, 2007.

Bajo condiciones de lámina de agua se pudo observar diferencias en el número y tamaño de espacios aeríferos dependiendo del genotipo. Para el Somaclon 2, en cada uno de los muestreos, se apreció un número máximo de dos espacios en la nervadura central, mientras que para el Somaclon 3 bajo esta misma condición, el valor máximo fue de seis en el tercer muestreo y dos espacios para el cuarto; por el contrario, en el genotipo Fundarroz PN-1 no se observó diferenciación de dichos espacios.

En condición de déficit hídrico, los genotipos Fonaiap-2000, Fundarroz PN-1 y Somaclon 3 evidenciaron un aumento en el número de espacios aeríferos en la nervadura central, encontrándose hasta seis espacios en Fonaiap-2000 a los 78 días después del trasplante (Figura 2a). Para condiciones de lámina de agua, el número de espacios fue menor (Figura 2b), lo que contradice lo hallado en *P. dilatatum* Poir y otras especies cultivadas bajo condiciones de estrés (Vasellati *et al.*, 2001). Para esta misma condición, se observó que los genotipos Somaclon 1 y Fundarroz PN-1 mostraron una tendencia al aumento de los haces vasculares de primer orden.

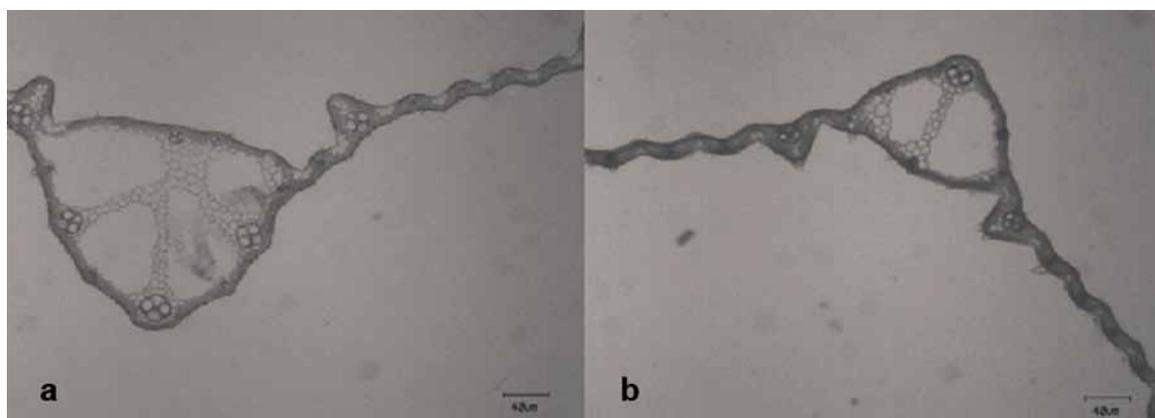


Figura 2. Número de espacios en la nervadura del genotipo 'Fonaiap 2000': a) sin lámina de agua; b) con lámina a los 78 días de muestreos.

Sin embargo, el valor máximo lo presentó el genotipo Cimarrón en el tercer muestreo, el resto de los materiales mostraron variabilidad en la tendencia, incluso el genotipo LO2 tendió a disminuir el número de estos haces vasculares en dos muestreos consecutivos (Figura 3Aa).

En la condición de déficit hídrico se observó un aumento en el NHV de primer orden, así lo manifestaron los genotipos Fonaiap-2000 y Fundarroz PN-1, siendo Fonaiap-2000 el de mayor representatividad, con un NHV de primer orden igual a diez (Figura 3Ab); el resto de los genotipos mantuvieron un rango comprendido entre 1 a 6 haces vasculares de primer orden.

Para la condición de lámina de agua, los cultivares Fonaiap-2000 y Fundarroz PN-1 mostraron

inicialmente un menor NHV en las nervaduras (Figura 3Ba), incluso Fundarroz PN-1, el cual no mostró la presencia de estos haces en el segundo muestreo. Para los siguientes muestreos, se observa un aumento en el NHV de segundo orden, obteniéndose valores máximos para los genotipos Fonaiap-2000 y Fundarroz PN-1, el resto de los genotipos se mantuvieron en un rango de 1 a 4; no obstante, Somaclon 3 presentó un valor de tres haces vasculares de segundo orden para cada muestreo (Figura 3Ba).

Bajo la condición de déficit hídrico se observó una tendencia positiva en el NHV de segundo orden para los genotipos Fundarroz PN-1, Somaclon-3, Fonaiap-2000 y LO2, el resto de los genotipos se desviaron de esta tendencia solo en el último muestreo (Figura 3Bb).

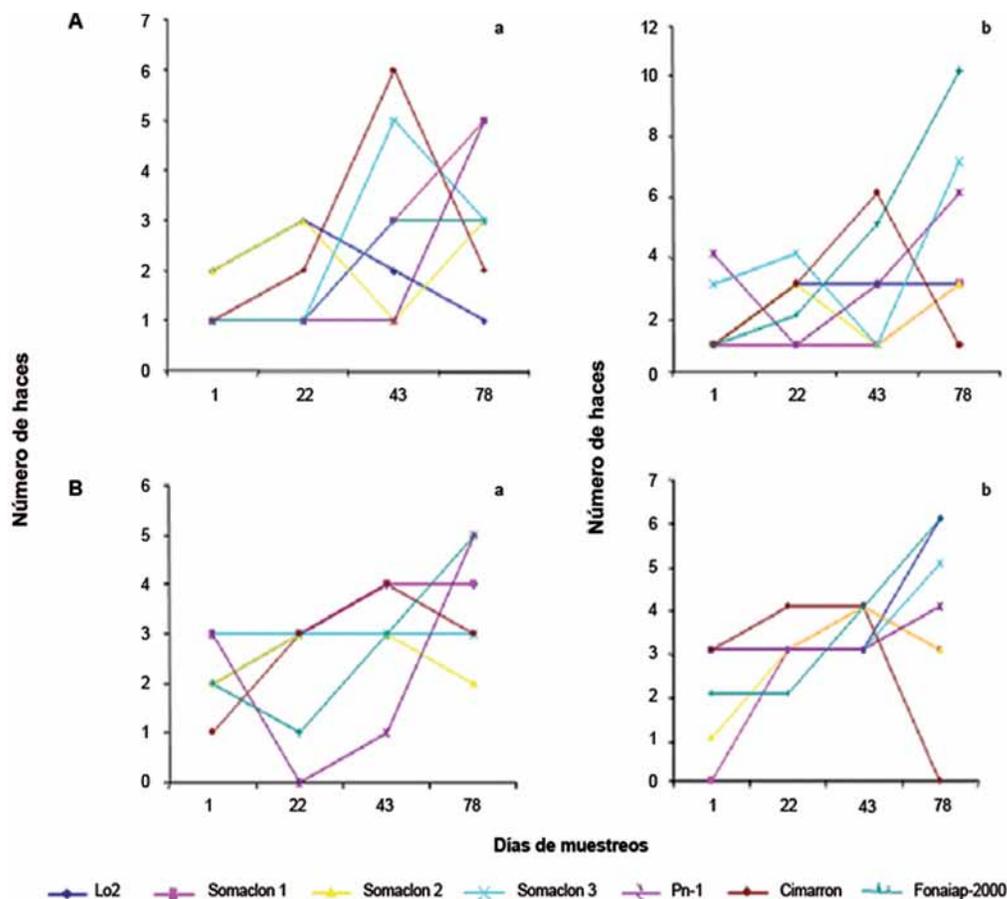


Figura 3. Número de haces vasculares de primer orden (A) y de segundo orden (B) en nervadura central de hojas de siete genotipos de arroz: (a) condición de lámina de agua; (b) sin lámina de agua.

Cuando se comparan ambas condiciones de humedad, los genotipos Fonaiap-2000 y Fundarroz PN-1 mantienen su aumento en el NHV de segundo orden, indicando una respuesta favorable a pesar de sufrir cambios en la disponibilidad de agua. El resto de los genotipos sufren marcadas variaciones en ambas condiciones. Solo el déficit hídrico al genotipo Somaclon 2, mostró la presencia de haz vascular de tercer orden (Figura 4). Diamont *et al.* (2007) reporta que esta característica es de interés en gramíneas, ya que le permite tolerar la condición de sequía impuesta, además, los vasos de menor diámetro pueden incrementar la resistencia al flujo de agua y su presencia por más tiempo en el tejido xilemático.

El NHV de primer orden en la lámina foliar de Fonaiap-2000, bajo la condición de lámina de agua, fue mayor en el tercer muestreo siendo su valor máximo de 17 (Figura 5Aa). En el resto de los muestreos todos los genotipos se mantuvieron en un rango entre 5-10 haces vasculares de primer orden (Figura 5Aa). Para la condición de déficit hídrico, el genotipo Somaclon 3 a partir del segundo muestreo incrementó su NHV de primer orden (19 haces vasculares), siendo el máximo valor para esta condición. Para el genotipo Fundarroz PN-1, se observó un aumento solo en el último muestro (18 haces vasculares), los demás genotipos se mantuvieron en un rango entre 5-8 haces (Figura 5Ab).

Al comparar ambas condiciones de humedad se pudo observar que no hubo cambios significativos en el NHV de la lámina foliar, ya que se mantuvieron en rango semejantes para ambas condiciones; a excepción del genotipo Somaclon-3 que se destacó por su desarrollo diferencial.

Bajo la condición de lámina de agua, se observó una tendencia al aumento en el NHV de segundo orden durante el desarrollo del cultivo, para el genotipo Fonaiap-2000 (Figura 5Ba), con un valor máximo de 31 para el cuarto muestreo, resultado similar fue observado en LO2 a excepción del último muestreo que evidenció una disminución. Los restantes genotipos mantuvieron fluctuaciones en un rango comprendido entre 13 a 29 haces vasculares de segundo orden.

Por el contrario, para la condición de déficit hídrico, los genotipos LO2 y Fonaiap-2000 presentaron una tendencia a disminuir el NHV en todos los muestreos; donde el valor máximo se observó en el cultivar Cimarrón con 28 haces vasculares de segundo orden y el valor mínimo para los genotipos LO2 y Fonaiap-2000 con 13 haces vasculares. Somaclon 3 presentó una disminución en el NHV de segundo orden, pero solo en el cuarto muestreo, los demás cultivares se mantuvieron en un rango comprendido entre 13-20 haces vasculares en la lámina foliar (Figura 5Bb).

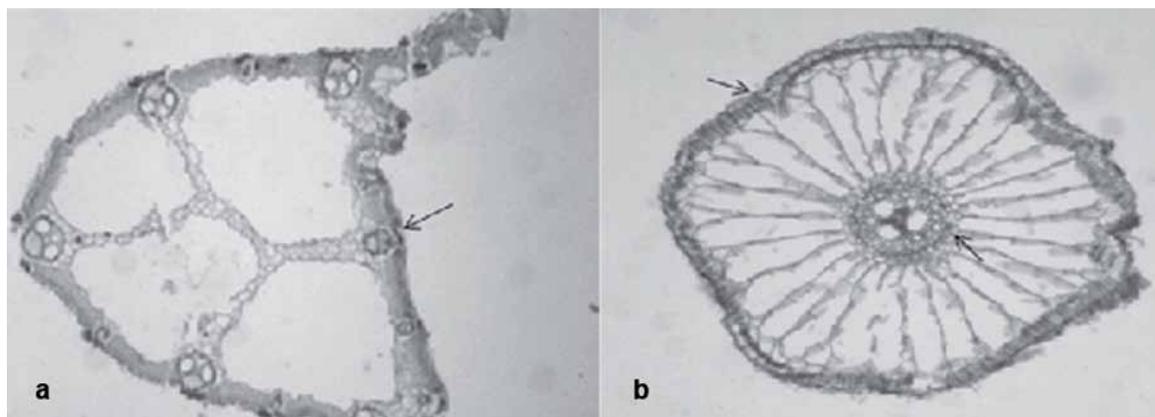


Figura 4. a) Haces vasculares de tercer orden en la nervadura del genotipo 'Somaclon 2' (22 ddM), condición sin lámina de agua, b) epidermis y endodermis radical engrosada de 'Fonaiap 2000' (22 ddM); condición lámina de agua.

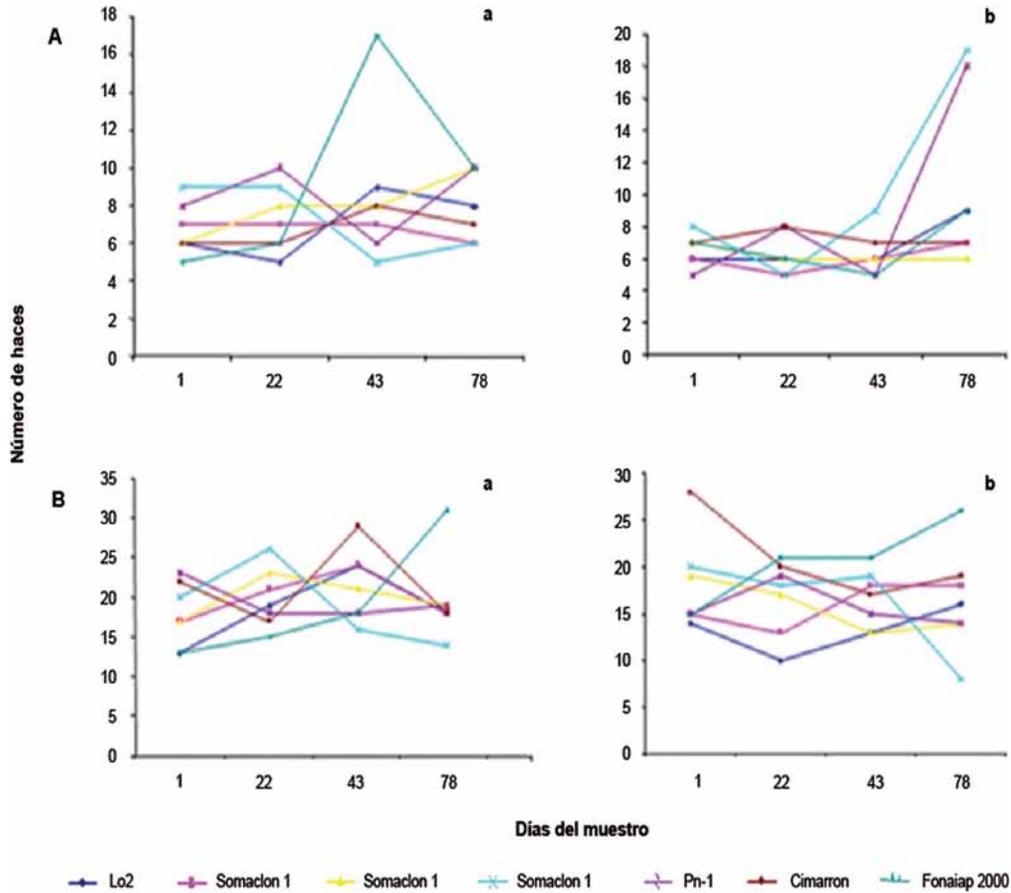


Figura 5. Número de haces vasculares de primer orden (A) y de segundo orden (B) en lámina foliar de siete genotipos de arroz: (a) condición de lámina de agua; (b) sin lámina de agua.

Los haces vasculares de tercer orden, para ambas condiciones de humedad, presentaron irregularidad en el desarrollo de todos los genotipos, probablemente se debe a diversos factores ambientales, genéticos y de manejo. Cabe destacar que los genotipos Somaclon 2 y Cimarrón; después del primer muestreo en la condición sin lámina de agua, mostraron desarrollo de los haces vasculares, lo cual indica una respuesta anatómica para esa condición (Diamont *et al.*, 2007; Van Rensburg *et al.*, 1994).

### Células buliformes

No se observó diferencias significativas para el número de células buliformes en la lámina foliar, para ambas condiciones hídricas. Se mantuvo el número de células entre 18 a 36 de acuerdo

al genotipo, en cada uno de los muestreos realizados, probablemente esta característica se ve poco afectada por el ambiente.

### Características anatómicas de la raíz

La evaluación de las características anatómicas de las raíces se hizo en los días de muestreo, con el fin de establecer una cronología de las observaciones realizadas en los siete genotipos de arroz bajo las condiciones de humedad establecidas. En el primer muestreo, bajo la condición de lámina de agua, no se observó engrosamiento en las células de la epidermis para seis de los genotipos, solo Fonaip-2000 presentó un engrosamiento aparente (Figura 4b). En todos los genotipos se observaron dos capas de células esclerenquimáticas de forma rectangular.

A nivel del periciclo se observó una doble capa engrosada de células ovaladas; hacia la parte interna del periciclo se halló el tejido metaxilemático conformado por tres a cinco vasos metaxilemáticos.

Para la condición de estrés hídrico no se evidenció cambios en la epidermis, solo hubo cambios en el número de vasos metaxilemáticos comprendidos entre dos y cinco en los genotipos Somaclon 1 y Cimarrón, respectivamente. El resto mantuvieron constantes el número de vasos metaxilemáticos para las dos condiciones, el cual fue de cuatro.

La reducción en el número de vasos xilemáticos está relacionada con un mecanismo para enfrentar los efectos del estrés hídrico, producto de una menor actividad de las células del cambium, tal como lo señalan Garzón y García (2011). Respuestas similares fueron reportadas por Guenni *et al.* (2006) en estudios con *Brachiarias*.

Al comparar ambas condiciones de humedad durante el segundo muestreo, no se evidenciaron cambios en la estructura de la epidermis. En la endodermis, el genotipo Somaclon 2 presentó, en ambas condiciones, modificaciones en la estructura y arreglo de las células del tejido radical, no observándose la doble capa esclerenquimática que la rodea. De igual manera, el genotipo Somaclon 3 demostró cambios estructurales en la endodermis, solo bajo la condición de lámina de agua.

### CONCLUSIONES

Las variables anatómicas medidas en las hojas, presentaron fluctuaciones marcadas, en ambas condiciones de humedad, indicando posibles tendencias favorables de adaptación.

Con relación a la anatomía de la raíz, se comprobaron solo cambios puntuales en la estructura de la endodermis, mientras que el resto de los componentes se mantuvieron inalterables.

Al comparar ambas condiciones de humedad durante el segundo muestreo, no se mostraron cambios en la estructura de la epidermis radical, de la doble capa esclerenquimática y la presencia de tejido aerífero; no obstante, en lo que concierne a la endodermis el Somaclon 2 presentó, en ambas

condiciones, modificaciones en la estructura y arreglo de las células que la componen, sin presentar la doble capa esclerenquimática que la rodea. De igual manera, el genotipo Somaclon-3 evidenció cambios estructurales en la endodermis, solo bajo la condición de lámina de agua. Similares resultados fueron encontrados durante el tercer muestreo.

Las características anatómicas que se vieron mayormente afectadas por las condiciones de déficit hídrico fueron, el área foliar: aumento en el número de espacios aeríferos en la nervadura principal y el NHV; en el tejido radical: reducción en el número de vasos xilemáticos. Sin embargo, es importante evaluar otras características anatómicas como grosor de la epidermis del tejido foliar y radical, así como la presencia o ausencia de aguijones o tricomas.

### LITERATURA CITADA

- Alfonso R. 2006. Mejoramiento para la resistencia a la sequía en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L). 1er Curso de capacitación en mejoramiento en arroz. Disponible en línea: <http://www.fao.org/untad/arroz.html> [Mar. 15, 2007].
- Araujo F., T. De Aquino e E. Stacciarini-Seraphine. 2000. Procurando um arroz C4 mediante examen anatómico foliar. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 12(3):246-254.
- Chaves M.M, J.P. Maroco and J.S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30(3):239-264.
- Chaves M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42:1-16.
- Diamont Pérez D., N. Mariño Salcedo y M. Pérez. 2007. Características anatómicas cualitativas de la nervadura central en hojas de cinco cultivares de *Oryza sativa* L. y la maleza *Oryza rufipogon* Griff., en fase adulta. XVII. *Con. Ven. Bot.* pp. 389-391.
- Diamont Pérez D., N. Mariño Salcedo y J.I. Azkue. 2005. Diferencias anatómicas en hojas de dos especies del género *Oryza* (*Oryza rufipogon*

- Griff. y *Oryza sativa* L cv. Fonaiap-1) en tres fases del ciclo ontogenético. *Agronomía Trop.* 55(4):569-585.
- Esau K. 1972. *Anatomía Vegetal*. Ediciones Omega, S.A. 779 p.
- Garzón P. y M. García. 2011. Efecto del estrés por NaCl sobre la anatomía radical y foliar en dos genotipos de frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ]. *Bioagro* 23(3):153-160.
- Guenni O., J. Gil, Z. Baruch, L. Márquez y C. Núñez. 2006. Respuestas al estrés hídrico en especies forrajeras de *Brachiaria* (Trin) Griseb (Poacea). *Interciencia* 31(7):505-511.
- Jiménez J. 2006. Caracterización morfológica y molecular del jardín clonal de cacao (*Theobroma cacao* L.) ubicado en la estación INIA-Miranda. Trabajo de grado, Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 58 p.
- Ortiz M., A. Silva, P. Silva y E. Acevedo. 2003. Estudios de parámetros hídricos en trigo (*Triticum aestivum* L.) y su uso en selección de genotipos resistentes a sequía. *Rev. Chilena de Historia Natural* 76(2):219-233.
- Roth I. 1964. *Microtecnia Vegetal*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. 88 p.
- Silva H., J. Martínez, C. Baginsky y M. Pinto. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de Poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Chilena de Historia Natural* 72:219-235.
- Van Rensburg L., G.H.J. Kruger and H. Krüger. 1994. Assessing the drought resistance and advantage of some anatomical and physiological features in *Nicotiana tabacum*. *Canadian Journal of Botany* 72(10):1.445-1.454.
- Vasellati V., M. Oesterheld, D. Medam and J. Loreti. 2001. Effect of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. *Annals of Botanic* 88(3):355-360.
- Vega P. 1988. *Introducción a la teoría de Genética Cuantitativa*. Ediciones de la Biblioteca Caracas. Universidad Central de Venezuela. 398 p.



## Evaluación y selección participativa de cultivares de caraota

### Participatory evaluation and selection of black bean cultivars

María del C. De Gouveia Pérez\*, Arnaldo J. Gámez y Henry R. Pérez

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA Guárico). Estación Experimental Valle de la Pascua, estado Guárico. Venezuela.

Correo electrónico: mgouveia@inia.gob.ve\*

#### RESUMEN

En las evaluaciones participativas, los agricultores juegan un papel fundamental en la selección de cultivares, por su conocimiento local y percepción sistémica del cultivo, integrándose activamente al proceso de investigación y logrando una sinergia con los investigadores para obtener tecnologías que realmente se adapten a sus condiciones y necesidades. El presente trabajo tuvo como objetivo facilitar la participación de los agricultores en la evaluación y selección de cultivares de caraota negra (*Phaseolus vulgaris* L.), permitiendo la incorporación de nuevos cultivares a los sistemas locales de producción. El estudio se realizó en la comunidad de Santa Rosa de Ceiba Mocha, para ello se aplicó la metodología de evaluación abierta y absoluta que permitió la identificación de los criterios locales de selección o preferencia de los agricultores y la aceptación o rechazo de los 18 cultivares evaluados. Asimismo, se determinó el número de vainas/plantas, número de granos/vaina y el rendimiento (R) en kg ha<sup>-1</sup>. Los cultivares con mayores porcentajes de aceptación, por parte de los agricultores, corresponden a Tacarigua (88%), Sesentera (75%), Local Guárico (75%) y Línea 13 (74%). Empleando como criterios importantes de selección los relacionados con el R, principalmente el número de vainas por planta, además de los factores bióticos de resistencia a plagas y enfermedades. Los resultados expresan coincidencias con la evaluación del equipo técnico, de allí la necesidad de que los fitomejoradores tomen en consideración los criterios y opiniones locales de los agricultores al momento de la selección, por ser ellos los usuarios potenciales.

**Palabras clave:** *Phaseolus vulgaris* L., fitomejoramiento participativo.

#### ABSTRACT

In participatory evaluations, farmers play a key role in cultivar selection because of their local knowledge and systemic perception of the crop. They actively integrate in the research process and synergy is achieved with researchers to obtain technologies that really suit their conditions and needs. This study aimed to facilitate the participation of farmers in the evaluation and selection of cultivars of black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), allowing the incorporation of new cultivars to local production systems. The study was conducted in the community of Santa Rosa in Ceiba Mocha, Guarico State. The methodology for open and absolute evaluation was applied and allowed the identification of criteria of local selection or preference of farmers and the acceptance or rejection of the 18 cultivars evaluated. The number of pods / plant, number of grains / pod and yield (Y) in kg ha<sup>-1</sup> were determined. The cultivars with higher percentages of acceptance by farmers, corresponded to: Tacarigua (88%), Sesentera (75%), Local Guárico (75%) and Linea 13 (74%), using as important selection criteria, those related to Y, mainly the number of pods per plant, in addition to biotic resistance to pests and diseases. The results showed similarities with the evaluation of the technical team, hence the need for breeders to take into account the criteria and opinions of local farmers in the selection, as they are the potential users of such cultivars.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L., farmer participatory research.

## INTRODUCCIÓN

Las leguminosas de grano representan un recurso alimenticio de gran importancia nutricional por su elevado contenido de proteínas, hidratos de carbono complejos y bajo contenido en grasa, características que las hacen adecuadas para dietas que requieran una baja respuesta glucémica; además, constituye una fuente alimenticia de menor costo en comparación con los productos de origen animal como la carne, el pescado y el huevo (Muzquiz *et al.*, 2012, Subuola *et al.*, 2012; García *et al.*, 2009).

Estudios indican que existe gran variabilidad química entre semillas de cultivares de caraota, lo cual podría redundar en una diversificación de su uso, y por ende, en una contribución al mejoramiento de la calidad nutricional en la ingesta de la población (Granito *et al.*, 2006).

A este respecto, las leguminosas son base fundamental para la seguridad agroalimentaria en Venezuela y presentan como características, una amplia adaptación a suelos y climas poco favorables; al mismo tiempo, juega un papel importante en la rotación de cultivos por su capacidad de fijación biológica de nitrógeno, dada la relación simbiótica con diversas bacterias radicales (Olmedilla *et al.*, 2010).

En el país, el cultivo y consumo de las leguminosas vienen de una larga tradición histórica; se produce en casi todos los estados, siendo la caraota negra (*Phaseolus vulgaris* L.), el frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp.), la arveja (*Pisum sativum* L.) y el quinchoncho (*Cajanus cajan* L.), las de mayor consumo (García *et al.*, 2009).

Es significativo el valor que tiene el estado Guárico, como una de las regiones del país con mayor potencialidad para la producción de caraota negra, representado por dos zonas agroecológicas de importancia como son: colinas y vegas. A pesar de estas potencialidades para la producción agrícola, presenta una serie de problemas que se deben abordar para hacer que estos sistemas de producción sean sustentables y contribuyan con la seguridad y soberanía agroalimentaria.

Uno de los problemas que limita el desarrollo del cultivo de caraota negra en la zona, es la deficiencia que existe de variedades mejoradas, adaptadas a las condiciones ambientales de la región, unido a la incidencia de plagas y enfermedades.

El acceso de las comunidades a las semillas del sector formal es escaso, lo que conlleva a que la producción, selección y la conservación, deben realizarlo los propios agricultores en sus fincas, mediante intercambios con variedades de la misma comunidad (Moreno *et al.*, 2005), lo que les brinda la posibilidad de crear sus propios sistemas locales de semillas.

Las leguminosas son cultivadas fundamentalmente en pequeñas unidades de producción campesina, distribuidas en todas las regiones del país. Por lo general, con fines de autoconsumo y comercio local (Pérez *et al.*, 2013), donde los agricultores con su conocimiento tradicional y percepción del cultivo bajo un enfoque sistémico, desarrollan una relación basada en fundamentos sociales, culturales y espirituales que identifican el sentir de la comunidad.

De allí, la importancia de hacer partícipes a los agricultores en el proceso de investigación y realizar una sinergia entre ellos y los investigadores, para poder obtener tecnologías que realmente se adapte a sus condiciones y necesidades.

Ceccarelli (2009), indica que la calidad de la participación no está relacionada con la raza, el género, la riqueza, la alfabetización y la religión, ya que los campesinos pueden compartir sus conocimientos con los científicos, tomando en cuenta la diversidad de criterios para evaluar cultivares que no son considerados en programas convencionales de fitomejoramiento.

En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo facilitar la participación de los agricultores y las agricultoras en la evaluación y la selección de cultivares de caraota negra; con el fin de incorporar nuevos cultivares a los sistemas locales de producción dándole especial interés a sus propios criterios de selección y conocimientos ancestrales.

**METODOLOGÍA**

El ensayo se estableció en la comunidad Santa Rosa de Ceiba Mocha, municipio Leonardo Infante, estado Guárico, latitud norte 13°12'8" y longitud oeste 66°01'13,7". El suelo es tipo franco arcillo arenoso con pH 6,3; de acuerdo al análisis de suelo realizado en el Laboratorio de Suelos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA), estado Guárico. El contenido de fósforo es bajo, potasio mediano y el calcio alto.

Los tratamientos correspondieron a 18 cultivares, incluido como testigo el cultivar Local Guárico de mayor uso en la región (Cuadro 1). Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Cada parcela

experimental conformada por tres hileras separadas entre sí, a 0,70 m, con 4 m de largo, y un área por unidad experimental de 8,4 m<sup>2</sup>, tomando para las evaluaciones el hilo central, previa eliminación de 0,5 m al comienzo y final de cada hilo. La siembra se realizó el 28 de agosto de 2012, a una profundidad de 2 a 3 cm y 14 semillas por metro lineal.

En cuanto a las labores del cultivo para la preparación de suelo, se efectuaron dos pases de rastra, previo pase de desmalezadora manual. En la fertilización se aplicó una fórmula completa 10-20-20, a razón de 300 kg ha<sup>-1</sup> al momento de la siembra. A los 13 y 31 días después de la siembra (DDS), se aplicó fertilizante orgánico (biofermentado) al 10% como abono foliar al cultivo.

Cuadro 1. Cultivares de caraota evaluados en la comunidad de Santa Rosa de Ceiba Mocha, municipio Leonardo Infante, estado Guárico.

<b>Tratamiento</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Procedencia</b>
1	Tacarigua	INIA variedad comercial
2	Sa029	INIA
3	Línea 13	INIA
4	L- 140	INIA
5	Minita	Empresa privada
6	Balina	Material local
7	Sesentera	Material local Lara
8	Silvinera	Material local Lara
9	1 Yaracuy Cardón	Material local Yaracuy
10	Monagas la Mona	Material local Monagas
11	Local Guárico (testigo)	Material local Guárico (testigo)
12	Valladolid	Material local Aragua
13	Inta Cardena	Nicaragua
14	Brs Campeiro	Brasil
15	Brs Supremo	Brasil
16	Tibaji	Brasil
17	Tiziu	Brasil
18	Uirapuru	Brasil

Al momento de la siembra y para el control de plantas arvenses, se utilizó el herbicida glifosato (2 litros ha<sup>-1</sup>), y a los 34 y 54 DDS se realizó control manual. En cuanto al manejo de plagas y enfermedades, se liberó *Trichogramma* (30.000 individuos/ha), una semana antes del establecimiento de los experimentos para el control de lepidópteros.

Al momento de la siembra, la semilla fue tratada de forma preventiva con *Trichoderma harzianum* a razón de 1 kg ha<sup>-1</sup>, se realizaron aplicaciones semanales de *Lecanicilium lecanii* (1 kg ha<sup>-1</sup>) al follaje para el control de coquitos perforadores e insectos chupadores como mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y saltahojas (*Empoasca kraemeri*).

Las variables biométricas evaluadas fueron: número de vainas por plantas (VP), número de granos por vaina (GV) y rendimiento (R), tomando para su medición las 10 plantas del hilo central.

En la valoración y selección participativa de los cultivares, en una primera fase se empleó el método de evaluación absoluta, que consiste en evaluar cada metodología o tecnología independientemente de las demás del conjunto (De Gouveia *et al.*, 2005; Guerrero *et al.*, 1996).

Los agricultores realizan su selección, expresando sus criterios y clasifican a los cultivares de acuerdo a una escala que va desde muy bueno, bueno, regular, malo hasta muy malo. En una segunda fase se efectuó una evaluación abierta donde se les pregunta a los agricultores cuál de los cultivares le gustó más y cuál menos. Este tipo de evaluación permitió al agricultor manifestar su aceptación o rechazo por cada tratamiento según sus propios criterios, además, tener la oportunidad de seleccionar cultivares de su preferencia. La etapa fenológica del cultivo donde se realizó la evaluación fue en la fenofase reproductiva R8-R9, y participaron un total de 16 agricultores expertos en el cultivo de caraota negra (CIAT, 1991).

Para la evaluación y procesamiento de los datos obtenidos en cuanto al porcentaje de selección, se tomó como referencia la escala donde cada característica le correspondía un valor que va desde el 5 al 1, donde 5 es muy bueno y 1 muy malo. Estos valores se multiplican por el

número de veces que los agricultores clasifican cada cultivar evaluado y después se obtiene el porcentaje, a fin de determinar el máximo valor que puede alcanzar un cultivar.

En cuanto a los valores correspondientes de las variables biométricas se aplicó el programa estadístico InfoStat, versión 1.0, realizando análisis de varianza y comparaciones de medias, utilizando la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) al nivel del 5% de significación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Evaluación agronómica. Variables biométricas

En el Cuadro 2 se observan las variables de R en kg ha<sup>-1</sup> y sus componentes VP y GV, de 18 cultivares evaluados, con diferencias altamente significativas entre tratamientos ( $P \leq 0,05$ ) para cada una de las variables.

Los mayores R correspondieron a los cultivares Tacarigua (830,89 kg ha<sup>-1</sup>), seguido de Línea 13 (790,15 kg ha<sup>-1</sup>) y Sesentera (757,2 kg ha<sup>-1</sup>), superando al cultivar Local Guárico (537,44 kg ha<sup>-1</sup>). Con valores más bajos se observaron los cultivares BRS Supremo (264,04 kg ha<sup>-1</sup>) y BRS Campeiro (440,03 kg ha<sup>-1</sup>).

El R promedio nacional en caraota, reportado por el Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT, 2011) es de 880 kg ha<sup>-1</sup>, al comparar los valores obtenidos de 18 cultivares, estos se encuentran por debajo de este promedio. Tales rendimientos pudieron verse afectados por la acción de factores abióticos como la presencia del complejo de hongos *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., que ocasionaron daños a los cultivares en las primeras etapas fenológicas del cultivo.

El hongo *M. phaseolina* localizado en zonas agrícolas de los estados Cojedes, Guárico y Portuguesa, afecta la calidad, el crecimiento y el R del grano (Lira *et al.*, 2012; Osorio *et al.*, 2012). Es importante señalar que el R de todo cultivo depende de factores ambientales, manejo agronómico y de las características genéticas propias del cultivo (López y Ligarreto, 2006; Lobell *et al.*, 2009).

Cuadro 2. Rendimiento y sus componentes en los cultivares de caraota evaluados en la comunidad de Santa Rosa de Ceiba Mocha, municipio Leonardo Infante, estado Guárico.

Cultivar	Vainas por planta	Granos por vaina	Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> )
Tacarigua	17,00 bcdef	3,22 abc	830,89 a
SA O29	13,48 gh	3,83 ab	420,24 g
Línea 13	22,87 a	3,31 abc	790,15 ab
L-140	15,15 efg	3,08 bc	561,82 def
Minita	15,25 defg	3,59 abc	571,58 def
Balina	16,35 cdef	3,47 abc	445,90 fg
Sesentera	19,10 b	3,07 bc	757,20 ab
Silvinera	15,45 defg	3,78 abc	728,89 abc
1 Yaracuy Cardón	21,70 a	3,69 abc	613,27 cde
Monagas La Mona	16,9 bcdef	3,01 bc	457,74 fg
Local Guárico (testigo)	15,05 fgh	3,34 abc	537,44 defg
Valladolid	21,30 bc	3,03 c	460,00 fg
INTA Cardena	15,55 defg	3,62 abc	566,01 def
BRS Campeiro	17,35 bcde	3,35 abc	440,03 fg
BRS Supremo	18,95 b	3,77 abc	264,04 h
Tibaji	12,92 hi	3,84 ab	445,20 fg
Tiziu	17,45 bcd	3,94 a	666,13 bcd
Uirapuru	11,20 i	3,78 abc	497,56 efg

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

### Evaluación participativa de cultivares

El Cuadro 3 muestra el porcentaje de selección de los cultivares de caraota de acuerdo a la evaluación absoluta realizada por los agricultores. Se observa que de 18 cultivares, Tacarigua (88%), Sesentera (75%), Local Guárico (75%) y Línea 13 (74%), fueron los de mayor porcentaje de selección.

Cuando se les aplicó la evaluación abierta a los agricultores para elegir el mejor cultivar, seleccionaron a Tacarigua con 81%, seguido del Local Guárico (19%), generalmente los agricultores prefieren cultivares conocidos por ellos, en este caso Local Guárico fue escogido a pesar de presentar susceptibilidad a enfermedades, siendo este un criterio de rechazo.

De igual manera, mostraron preferencia por la variedad comercial Tacarigua que fue sembrada en la zona, mientras que los cultivares BRAS Supremo y BRS Campeiro resultaron los más rechazados con 93 y 6%, respectivamente (Cuadro 4).

La variedad Tacarigua se originó a partir de dos ciclos sucesivos de selección masal practicada dentro de una colección denominada 'Venezuela 44' proveniente de Colombia e introducida al país en 1967, siendo liberada en 1972 (Ortega y Barrios, 1972). Esta variedad presentó los mayores grados de aceptabilidad por parte de los agricultores, indicando que ninguno de los otros cultivares lograron superarla, a pesar de los años que tiene liberada en el mercado. Las razones empleadas para la selección fueron: buena carga, buen follaje y tamaño de la planta,

buen tamaño de maraca (vaina), resistencia a plagas y uniformidad de la planta.

Al comparar los resultados arrojados por la evaluación absoluta y abierta efectuada por los agricultores, presentan coincidencias en la selección realizada. Asimismo, entre los cultivares que registraron mayores rendimientos y los seleccionados por los agricultores, de allí el valor de los saberes de los agricultores que expresan sus percepciones de acuerdo a su experiencia y conocimiento local.

Es significativa la importancia del conocimiento local de los agricultores al igual que la transmisión que hacen del mismo, de generación en generación, formando parte de sus costumbres y creencias, basadas y desarrolladas por percepciones únicas

originadas de las experiencias y observaciones cotidianas de los agroecosistemas (Mora, 2008), siendo fuente valiosa de información para coleccionar, caracterizar y conservar cultivares en programas de fitomejoramiento (Bolívar *et al.*, 2000).

Los cultivares desconocidos para los agricultores como Línea 13 y Sesentera, obtuvieron una buena aceptación, a pesar de no superar a los conocidos por ellos como Tacarigua y el cultivar Local Guárico.

Morros y Pire (2003), señalan que al incorporar agricultores a las evaluaciones, se les permite el contacto con los nuevos cultivares para que puedan evaluarlos bajo sus condiciones y manejo, lo que supone que los cultivares seleccionados por éstos, tengan una mayor probabilidad de aceptación y difusión en la zona.

Cuadro 3. Porcentaje de selección de los cultivares de caraota de acuerdo a la evaluación absoluta realizada por los agricultores.

Cultivares	Selección (%)	Porcentaje de agricultores que califican a los cultivares				
		Muy bueno	Bueno	Regular	Malo	Muy malo
Tacarigua	88	37	63			
SA O29	68		37	63		
Línea 13	74		69	31		
L- 140	64		19	81		
Minita	60		6	88	6	
Balina	65		25	75		
Sesentera	75	19	37	44		
Silvinera	60		6	88	6	
1 Yaracuy Cardón	68		37	63		
Monagas La Mona	68		44	56		
Local Guárico (testigo)	75	13	50	37		
Valladolid	66		31	69		
INTA Cardena	56			81	19	
BRS Campeiro	48			56	25	19
BRS Supremo	29			19	6	75
Tibaji	63		19	75	6	
Tiziu	56		6	69	25	
Uirapuru	58		6	75	19	

Cuadro 4. Selección abierta de cultivares por los agricultores.

Cultivares	Aceptación		Rechazo	
	%	Razones	%	Razones
Tacarigua	81	Buena carga, buen follaje y tamaño de la planta, buen tamaño de maraca, resistencia a plagas, uniformidad de la planta.		
Local Guárico	19	Buen tamaño de maraca, buen desarrollo de follaje y porte.		No madura uniformemente. Susceptible a enfermedades.
BRAS Supremo			93	Llenado regular, insuficientes vainas, susceptible a enfermedades.
BRAS Campeiro			6	Susceptible a enfermedades.

La evaluación y selección participativa de cultivares contribuye a la introducción de nuevas variedades en las fincas, siendo una herramienta efectiva para fomentar la adopción y diseminación de nuevas variedades entre los pequeños agricultores (De la Fe *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2009; Lamin *et al.*, 2005; Ríos, 2009; Ruz *et al.*, 2007).

En el Cuadro 5, se observan las razones de selección empleadas por los agricultores para la aceptación o rechazo de los 18 cultivares evaluados, éstas se agruparon en cuatro criterios generales (Cuadro 6), donde se indica el número de veces que fue considerado y la prioridad de los mismos; de éstos, los criterios mayormente empleados fueron resistencia a insectos plagas, enfermedades y R, ambos criterios con valores muy cercanos, lo que indica que para los agricultores son los criterios más importantes.

Es común que los criterios relacionados con R y con las características del grano, sean los más empleados en la selección de variedades (Miranda *et al.*, 2007). Asimismo, Díaz *et al.* (2008), indican que los campesinos eligen cuatro o más caracteres afines con el ambiente, las características de la planta y semilla; siendo los que contribuyen significativamente en el mejoramiento genético de la especie, por integrar

una mayor cantidad de conocimientos y someter a mayor presión a la planta.

La selección participativa por parte de los agricultores, sirve para identificar los criterios de clasificación de los cultivares evaluados. En cuanto a los criterios de selección, evalúan las características que son importantes y, luego, compensan las ventajas y desventajas de cada una, por lo general correspondiendo con los componentes del R del cultivo, y relacionados con factores bióticos.

Resultados similares en cuanto a criterios de selección fueron obtenidos por Moreno *et al.* (2009) en arroz (*Oryza sativa* L.); por Martínez *et al.* (2006) y Acosta *et al.* (2007) en maíz (*Zea mays* L.); por López *et al.* (2007) en yuca (*Manihot esculenta* Crantz); por Moya *et al.* (2009) en tomate (*Solanum lycopersicum* L.); por Pino *et al.* (2007) en plátano (*Musa* sp.); entre otros.

Otro aspecto de interés es que la selección de cultivares por parte de los agricultores coincide con la selección realizada por el equipo técnico, observándose una preferencia por aquellos cultivares con los mejores rendimientos. Resultados similares fueron obtenidos por De Gouveia *et al.* (2005); De la Fe *et al.* (2009); Morros y Pire (2002); Asfaw *et al.* (2012).

Cuadro 5. Razones de los agricultores para la aceptación o rechazo de los cultivares de caraota evaluados.

Cultivares	Razones utilizadas por los agricultores para aceptación o rechazo	
	Aceptación	Rechazo
Tacarigua	Buena carga, buen follaje y tamaño de la planta, buen tamaño de maraca, resistencia a plagas, uniformidad de la planta	
SA O29	Maraca de buen tamaño, buena carga, no ramea	Susceptible a enfermedades
Línea 13	Buen tamaño de maraca, buen porte de la planta, buena carga	La ataca mucho la plaga
L- 140		Desarrollo no uniforme Vaina pequeña
Minita		Poco desarrollo de la planta, susceptible a enfermedades
Balina	Buen color	Deficiente número de vainas, tiene acame, poca carga.
Sesentera	Buen follaje, buena carga, buen número de vainas, buen color	
Silvinera	Buen color de la mata	Mata muy pequeña
1 Yaracuy Cardón	Buen porte, buen llenado, buena carga	Presenta enfermedades
Monagas La Mona	Buena carga, buen porte, buen número de vainas, buen color	Llenado de vaina deficiente Presenta enfermedades Poco número de granos Poca carga
Local Guárico	Buen tamaño de maraca, buen desarrollo de follaje y porte	No madura uniformemente Susceptible a enfermedades
Valladolid	Tiene maracas buenas, resistente a enfermedades, buen color	
INTA Cardena	Buen porte de la mata, buen tamaño de la planta, buen llenado	
BRS Campeiro	Buen llenado, buen follaje	Susceptible a enfermedades
BRS Supremo		Llenado regular, insuficientes vainas, susceptible a enfermedades
Tibaji	Buen tamaño de la vaina Buen llenado	Material irregular, susceptible a enfermedades, presenta acame
Tiziu		Vainas de distintos tamaños, llenado irregular, susceptible a enfermedades
Uirapuru	Buen llenado	Vaina irregular, susceptible a enfermedades, carga no pareja

Cuadro 6. Orden de prioridad de los principales criterios de selección señalados por los agricultores en la evaluación de 18 cultivares de caraota.

Criterios agrupados	Número de veces señalados por los agricultores	Orden de prioridad
Resistencia a insectos plagas y enfermedades	149	1
Rendimiento	143	2
Morfología de la planta	50	3
Tamaño de grano	20	4

La aplicación de metodologías y herramientas participativas fortalece el proceso de investigación/educación, puesto que la misma facilita la adopción y difusión de los cultivares adaptados a las condiciones socioculturales, económicas y agroecológicas, como lo indica Vernooy (2003). La selección descentralizada realizada en las parcelas de los agricultores, es una metodología importante para lograr la adaptación de cultivos a contextos biofísicos, sociales y económicos específicos y responder a las necesidades y al conocimiento de los agricultores.

### CONCLUSIONES

Los cultivares con mayor porcentaje de selección por parte de los agricultores fueron: Tacarigua (88%), Sesentera (75%), Local Guárico (75%) y Línea 13 (74%), siendo los principales criterios de selección los relacionados con R, VP y factores bióticos (resistencia a plagas y resistencia a enfermedades).

Los mayores rendimientos correspondieron a los cultivares Tacarigua (830,89 kg ha<sup>-1</sup>), Línea 13 (790,15 kg ha<sup>-1</sup>) y Sesentera (757,2 kg ha<sup>-1</sup>), presentando el R más bajo, el cultivar BRS Supremo (264,04 kg ha<sup>-1</sup>), que mostró coincidencias con los cultivares seleccionados por los agricultores al igual que los rechazados.

Los agricultores poseen un valioso conocimiento local, de allí la necesidad de que los equipos de fitomejoradores tomen en consideración criterios

y opiniones de los agricultores al momento de la selección de cultivares por ser ellos los usuarios potenciales de estas tecnologías.

### AGRADECIMIENTO

A cada uno de los agricultores que participaron en esta investigación por su valioso aporte de saberes, apoyo y esfuerzo otorgado.

### LITERATURA CITADA

- Acosta R., H. Ríos, A. Kessel, M. Martínez y M. Ponce. 2007. Selección participativa de germoplasma cubano de maíz (*Zea mays*, L.) en el sistema local de Batabanó, la Habana. *Cultivos Trop.* 28(2):63-70.
- Asfaw A., C. Almekinders, M. Blair and P. Struik. 2012. Participatory approach in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding for drought tolerance for southern Ethiopia. *Plant Breeding* 1(131):125–134.
- Bolívar A., M. López, M. De Gouveia y M. Gutiérrez. 2000. El conocimiento local y su contribución al trabajo de rescate, conservación y uso de las semillas de *Phaseolus* y *Vigna* en las vegas del Río Orinoco, estado Guárico, Venezuela. *Plant Genetic Resources Newsletter.* (123):28-34.
- Ceccarelli S. 2009. Evolution, plant breeding and biodiversity. *Journal of Agriculture and Environment for International Development.* 103(1-2):131-145.

- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1991. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Aart van Schoonhoven y Marcial A. Pastor-Corrales (comps.). Cali, Colombia.
- De Gouveia M., A. Bolívar, M. López, A. Salih y H. Pérez. 2005. Participación de agricultores en la selección de materiales genéticos de frijol (*Vigna unguiculata*) evaluados en suelos ácidos de la parroquia Espino, estado Guárico (Venezuela). Cuadernos de Desarrollo Rural (54):113-129.
- Díaz M., B. Herrera, J. Ramírez, M. Aliphath y A. Delgado. 2008. Conocimiento campesino en la selección de variedades de haba (*Vicia faba* L.) en la sierra norte de puebla México, 33(8):610-615.
- De la Fe C., O. Rodríguez, M. Ponce y R. Ortiz. 2009. Coincidencia en la selección participativa de variedades de frijol común y la Selección por rendimiento en una Feria de Agrobiodiversidad. Cultivos Trop. 2(30):73-79.
- García O., R. Infante y C. Rivera. 2009. Las leguminosas, una fuente importante de fibra alimentaria: Una visión en Venezuela. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". 40(1):57-63.
- Granito M., J. Guinand y D. Pérez. 2006. Composición química y nutricional de variedades *Phaseolus vulgaris* cultivadas en Venezuela. Agronomía Trop. 56(4):513-522.
- Guerrero M., J. Ashby y T. Gracia. 1996. Evaluación de tecnologías con productores: ordenamiento de preferencias. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 4-5.
- Lamin N., S. Miranda y H. Ríos. 2005. Evaluación del impacto de la selección participativa de variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la Palma, Pinar del Río. Cultivos Trop. 4(26):89-94.
- Lira K., J. Salinas, A. Díaz y N. Mayek. 2012. Efecto de labranza, humedad y fertilización en el rendimiento de frijol y la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 3(2):365-371.
- Lobell D., K. Cassman and C. Field. 2009. Crop Yield Gaps: Their Importance, Magnitudes, and Causes. Annu. Rev. Environ. Resour. (34):179-204.
- López A., L. Hernández y C. Iglesias. 2007. Selección varietal participativa para el mejoramiento de la yuca con agricultores en la región Caribe colombiana: desarrollo de una metodología. Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria 8(2):32-41.
- López J. y G. Ligarreto. 2006. Evaluación por rendimiento de 12 genotipos promisorios de frijol voluble (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo bola roja y Reventón para las zonas frías de Colombia. Agronomía Colombiana 24(2):238-246.
- Martínez M., H. Ríos, S. Miranda, I. Moreno, R. Acosta, A. Farrera y J. Velasco. 2006. Caracterización de la diversidad y selección participativa de prospecciones de maíz en Chiapas, México. Cultivos Trop. 27(1):55-62.
- Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT). 2011. Series estadísticas. Caracas, Venezuela: Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras.
- Miranda S., R. Ortiz, M. Ponce, R. Acosta y H. Ríos. 2007. La selección participativa de variedades de frijol común por agricultores en Ferias de Diversidad; una alternativa para introducción de variedades. Cultivos Trop. 4(28):57-65.
- Miranda S., R. Ortiz, H. Ríos, M. Ponce, R. Acosta y D. Vargas. 2009. Impacto de la selección participativa sobre la diversidad varietal de frijol común en ocho fincas del occidente cubano. Cultivos Trop. 30(2):10-14.
- Mora M. 2008. Persistencia, conocimiento local y estrategias de vida en sociedades campesinas. Revista de estudios Sociales (29):122-133.
- Moreno I., H. Ríos, L. Guzmán, M. Martínez y R. González. 2005. Caracterización de los

- sistemas locales de arroz en la comunidad de San Andrés, municipio la Palma, Pinar del Río. *Cultivos Trop.* 26(3):5-9.
- Moreno I., V. Puldón y H. Ríos. 2009. Reseña el fitomejoramiento y la selección participativa de variedades de arroz. *Cultivos Trop.* 30(2):24-30.
- Morros M.E. y A. Pire. 2003. Evaluación participativa de materiales promisorios de vainita *Phaseolus vulgaris* L. en las zonas altas del estado Lara. *Rev. Fac. Agron.* 20(1):21-33.
- Morros M.E. y A. Pire. 2002. Utilización de Metodologías Participativa en la selección local de variedades de caraota *Phaseolus vulgaris* L. *Agronomía Trop.* 52(1):59-74.
- Moya C., J. Arzuaga, I. Amat, L. Santiesteban, M. Álvarez, D. Plana, F. Dueñas, M. Florido, J. Hernández y E. Fonseca. 2009. Evaluación y selección participativa de nuevas líneas y variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la región oriental de Cuba. *Cultivos Trop.* 30(2):66-72.
- Muzquiz M., A. Varela, C. Burbano, C. Cuadrado, E. Guillamon and M. Pedrosa. 2012. Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*. Disponible en línea: <https://springerlink3.metapress.com/content/m1701888476j1347/resource-secured/?target=fulltext.pdf&sid=3exbvjmkwl3q1ba000fftbfb&sh=www.springerlink.com> [Mar. 10, 2014]
- Olmedilla B., R. Farré, C. Asensio y M. Martín. 2010. Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad Dietética* 14(2):72-76.
- Ortega S. y A. Barrios. 1972. 'Tacarigua': nueva variedad de caraota negra (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomía Trop.* 22(4):435-438.
- Osorio U., D. Jiménez, M. Tamayo, W. Perdomo y N. Moreno. 2012. Impacto de estrategias en la epidemiología de la pudrición basal, la pudrición carbonosa y el rendimiento de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Selva Andina Res. Soc.* 3(2):14-26.
- Pérez D., N. Camacaro, M. Morros y A. Higuera. 2013. Leguminosas de grano comestible en Venezuela, caraota, frijol y quinchoncho. Caracas: Ediciones ONCTI. 156 p.
- Pino M., L. Hernández, M. Dominí, A. Ramírez, Z. Terán y E. Calves. 2007. Selección participativa de variedades y experimentación campesina en agricultura urbana en el cultivo del plátano (*Musa* spp.). *Cultivos Trop.* 28(2):13-19.
- Ríos H. 2009. Reseña la diseminación participativa de semillas: Experiencias de Campo. *Cultivos Trop.* 2(39):89-105.
- Ruz R., F. Viera y D. Laguna. 2007. Evaluación de 47 variedades de frijol común a través del fitomejoramiento participativo en la localidad de Playuela, Majibacoa, Las Tunas. *Centro Agrícola* 34(2):43-47.
- Subuola F., Y. Widodo and T. Kehinde. 2012. Processing and utilization of legumes in the tropics, trends in vital food and control engineering, Prof. Ayman Amer Eissa (Ed.), ISBN: 978-953-51-0449-0, InTech. Disponible en línea: <http://www.intechopen.com/books/trends-in-vital-food-and-control-engineering-processing-and-utilization-of-legumes-in-the-tropics>. [Mar. 10, 2014]
- Vernooy R. 2003. Semillas generosas. Mejoramiento participativo de plantas. Colección En-Foco IDRC. 103 p.



## Caracterización molecular de genotipos de *Rubus* mediante marcadores microsatélites

### Molecular characterization of *Rubus* genotypes by microsatellite markers

Sara Roa Delgado<sup>1\*</sup>, Hilda Fernández González<sup>2</sup>, Luis Angulo Graterol<sup>3</sup>, Nora Useche Carrillo<sup>2</sup> e Yreny De Faría Muñoz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Táchira y <sup>2</sup>Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). <sup>3</sup>Universidad Central de Venezuela (UCV). Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA). Maracay, estado Aragua. Venezuela.

\*Correo electrónico: sroa@inia.gob.ve, sararoadelgado@gmail.com.

#### RESUMEN

La mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), así como varias especies silvestres en Venezuela, se ubican en zonas de laderas con altitudes superiores a los 1.500 m. A pesar de ser un frutal de mucha importancia en el país, por sus propiedades nutraceuticas y por la actividad económica que genera para los productores de las zonas altas, poco se conoce acerca de la variabilidad genética de este género y su vulnerabilidad por la pérdida de su hábitat natural y los ataques de plagas y enfermedades. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la variabilidad genética existente en una muestra de 65 genotipos de *Rubus* cultivados y silvestres colectados en los estados Táchira, Mérida y Aragua, utilizando marcadores microsatélites. Se evaluaron 16 primers microsatélites, de los cuales seis fueron polimórficos y generaron 18 bandas polimórficas con un promedio de 2,83 alelos por locus. El análisis molecular reveló una alta similitud en los genotipos de *R. glaucus*, debido posiblemente al empleo de pocos iniciadores específicos, a la propagación vegetativa y a la cercana ubicación geográfica de los genotipos cultivados y silvestres.

**Palabras clave:** *Rubus glaucus* Benth, mora de castilla, variabilidad genética, especies silvestres.

#### ABSTRACT

The andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth), as well as, several wild species in Venezuela are found on hillsides located above 1.500 m. Despite of being an important fruit crop in the country, because of the nutraceutical properties and the great economical value of the activity for the producers, too little is known about its genetic variability and its vulnerability due to the loss of their natural habitats and pest and disease damages. The objective of this work was to characterize the genetic variability of a sample composed by 65 cultivated and wild *Rubus* genotypes collected in the states of Táchira, Mérida and Aragua. Microsatellite markers were used to characterize their genetic variability. A number of 16 microsatellite primers were evaluated, 6 of which were polymorphic, generating 18 polymorphic fragments with an average of 2,83 alleles per locus. The molecular analysis revealed a great similarity among the *R. glaucus* genotypes possible due to the use of few specific primers, the vegetative propagation of this crop and that genotypes were collected in nearby geographical regions.

**Key words:** *Rubus glaucus* Benth, blackberries andean, genetic variability, wild species.

## INTRODUCCIÓN

La mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) pertenece a la familia de las *Rosáceas*. El género *Rubus* es bastante difundido en el mundo, se estima que existen unas 400 ó 500 especies con hábito de crecimiento bianual y perennes que pueden reproducirse sexual o apomícticamente. El número básico de cromosomas es 7, con niveles de ploidía desde diploides  $2x=2n=14$  hasta dodecaploides  $12x=2n=84$  (Marulanda *et al.*, 2007; Cancino *et al.*, 2011).

La especie *R. glaucus* es originaria de las zonas altas tropicales de América, principalmente Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y El Salvador (Avilán *et al.*, 1992; Franco y Giraldo, 2000). Sus frutos se consumen de forma fresca y procesada, como en jugos, mermeladas, vinos, entre otros (Darrow, 1952; Bautista, 1977).

Las especies latinoamericanas del género *Rubus* se encuentran agrupadas principalmente en tres subgéneros: *Rubus*, *Idaeobatus* y *Orobatus*, este último, exclusivo de Suramérica (Ballington *et al.*, 1993; Marulanda *et al.*, 2007). La mora de castilla se considera un híbrido porque combina características de los subgéneros *Idaeobatus* y *Rubus*, además es un anfidiplóide fértil (Jennings, 1998; Marulanda *et al.*, 2007).

En Venezuela, la mora constituye un frutal promisorio y de gran importancia comercial. Cultivado principalmente en los estados andinos y en menor proporción en zonas altas de los estados Lara y Aragua.

Comúnmente, en las zonas de producción del país se consiguen otras especies de *Rubus* silvestres creciendo junto a la mora cultivada, con serio peligro de pérdida de diversidad. Sin embargo, se conoce poco de la ubicación de estas especies silvestres, su cuantificación y la diversidad genética existente intra e interespecíficamente (Roa, 2014).

La diversidad genética de una especie puede medirse de diferentes formas, la más común es mediante descriptores morfológicos. No obstante, las condiciones ambientales influyen en la manifestación de ciertos caracteres fenotípicos

como el color de los tallos y flores, que pueden interpretarse erróneamente como variabilidad genética dentro de una especie, cuando lo que ocurre realmente es una adaptación diferencial entre poblaciones (Marshall *et al.*, 2001; Roa *et al.*, 2010).

Los marcadores moleculares son una herramienta útil para medir la diversidad genética. Estos revelan polimorfismo a nivel de ácido desoxirribonucleico (ADN) y resultan un método más directo y confiable que los descriptores morfológicos, principalmente porque no están influenciados por el ambiente, pueden ser evaluados en cualquier etapa de desarrollo de la planta y se encuentran en todo el ADN del individuo.

En especies cultivadas y silvestres de *Rubus*, se ha estudiado la diversidad genética utilizando marcadores moleculares, como polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y microsatélites (Morillo *et al.*, 2005; Marulanda *et al.*, 2006; Salvini *et al.*, 2006). Los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) son regiones de secuencias pequeñas (2 a 10 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, distribuidas al azar por todo el ADN; pueden o no estar asociadas con genes; son loci altamente mutables; son codominantes y multialélicos; y el polimorfismo se puede visualizar mediante electroforesis en geles de agarosa o de poliacrilamida (Spooner *et al.*, 2005; Posso y Ghneim, 2008; Asofeifa, 2006).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar molecularmente la variabilidad genética existente entre genotipos de *Rubus* cultivados y silvestres colectados en los estados Táchira, Mérida y Aragua, utilizando marcadores moleculares microsatélites.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal fue conformado por muestras de genotipos de la especie cultivada *R. glaucus* (53 muestras); las especies silvestres *R. adenotrichus* (6 muestras), *R. niveus* (una muestra) y *R. idaeus* (5 muestras), para un total de 65 muestras. Las especies *R. glaucus* y *R. adenotrichus* corresponden al subgénero *Rubus*, mientras que las especies *R. niveus* y *R. idaeus* pertenecen al subgénero *Idaeubatus*.

En el Cuadro 1 se observa la ubicación de los sitios de muestreo de los diferentes genotipos. Las colectas del tejido foliar se realizaron en los biomas de acuerdo a la clasificación mencionada por Ewel *et al.* (1976). En el estado Táchira los muestreos se realizaron en los municipios Jáuregui, San Simón, Michelena, (zonas de bosque seco montano bajo y bosque muy húmedo montano); Junín y Urdaneta (bosque húmedo montano bajo y bosque seco premontano) y Uribante (bosque muy húmedo premontano); en el estado Mérida, en los municipios Santos Marquina, Libertador (bosque muy húmedo montano) y Caracciolo Parra (bosque húmedo montano bajo y bosque muy húmedo montano); y en el estado Aragua, en el municipio Tovar, ubicado en la Cordillera de la Costa, en la zona denominada bosque nublado.

Las zonas de muestreo correspondieron a los biomas denominados selvas nubladas y páramos (Hernández, 1998).

### Extracción y cuantificación de ADN genómico

La extracción del ADN se realizó usando el Kit PROMEGA®, siguiendo las instrucciones del fabricante a partir de 0,1 g de tejido foliar y macerado en un mortero con nitrógeno líquido.

La evaluación de la calidad y concentración de los ADN se realizó en gel de agarosa al 0,8%, teñido con bromuro de etidio, mediante la técnica de electroforesis horizontal, en una cámara marca Bio-Rad Power PAC 3000, a 100 voltios y 50 miliamperios, durante media hora, utilizando tampón TBE 0,5X (54 g de Tris base; 27,5 g de ácido bórico y 20 ml de EDTA 0,5 M). Se utilizó el bacteriófago Lambda a una concentración de 100 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  como referencia. Se usó un Spectrophotometro Nano Drop 1000 para determinar la concentración de ADN (ng  $\mu\text{l}^{-1}$ ) y la pureza. Los ADN se diluyeron a una concentración de 10 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  con tampón TE (10 mM Tris-Cl; 1 mM EDTA) y se almacenaron a -20 °C.

### Amplificación del ADN

Para la amplificación del ADN vía reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizaron 16 pares de cebadores microsatélites (Cuadro 2) sintetizados por Eurogentec® (Amsellen *et al.*, 2001; Lopes *et al.*, 2006 y Marulanda *et al.*, 2011).

Cada reacción de PCR consistió en 10 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  de ADN; 1,67 X de tampón; 2,5 mM de  $\text{MgCl}_2$ ; 0,33  $\mu\text{M}$  de cada iniciador; 0,40 mM de dNTPs; 0,33 mg  $\text{ml}^{-1}$  de albúmina bovina (BSA) y 0,06 U  $\mu\text{l}^{-1}$  de Taq polimerasa, para un volumen final de 15  $\mu\text{l}$ . Se utilizó un termociclador MJ Research PTC-100 con 35 ciclos a una temperatura de alineamiento adecuada para cada par de iniciadores por 1 min, extensión a 72 °C durante 1 min y extensión final a 72 °C por 10 min.

### Electroforesis de los productos de PCR

Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis durante 2,5 horas a 90 V y 50 miliamperios en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio. Se utilizó un marcador de peso molecular de 25 pares de bases (pb) para determinar los pb de los alelos para cada SSR. Los geles fueron digitalizados con el equipo Gel-Doc XR Imagen Sistem Bio-Rad y analizados con el programa Quantity One® versión 4.2. Se realizaron electrofóresis en geles de poliacrilamida 6% utilizando la metodología de Posso y Ghneim (2009), para aquellos loci que no presentaron buena resolución en geles de agarosa.

### Análisis estadístico

A partir de los alelos obtenidos para cada locus microsatélite, se construyó una matriz binaria de presencia (1) y ausencia (0). Se determinó el contenido de información polimórfica (PIC, siglas en inglés) de cada marcador de acuerdo a la fórmula:

$$n\text{PIC}_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2 \text{ en la cual,}$$

$P_{ij}$  es la frecuencia del  $j$  ésimo alelo, del  $i$  ésimo iniciador, y  $n$  son los alelos (Bonstein *et al.*, 1980; Anderson *et al.*, 1993; Shuster *et al.*, 2009; Laurentin, 2009; Marulanda *et al.*, 2007, 2011).

Las relaciones genéticas entre los diferentes genotipos fueron estimadas usando el método WARD y el procedimiento de agrupación empleado para construir el dendrograma, fue el método de agrupamiento de pares no ponderados (UPGMA, siglas en inglés), utilizando la media aritmética (Sneath y Sokal, 1973) y el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Localización de sitios de muestreo de especies de *Rubus* en los estados Táchira, Mérida y Aragua.

Muestra	Localidad	Latitud	Longitud	Altitud (m)	Especie	Estado
2	Mesa de Aura	07°57'06"	72°06'30"	1.900	<i>R. idaeus</i>	Táchira
3	La Cúspide	08°02'49,50"	72°8'24,7"	1.992	<i>R. idaeus</i>	Táchira
4	Pueblo Hondo	08°15'13,89"	77°54'42,63"	2.388	<i>R. idaeus</i>	Táchira
5	La Laguna	07°51'3,2"	72°12'40,7"	1.247	<i>R. niveus</i>	Táchira
6	El Picacho	10°24'24,12"	67°18'41,54"	2.198	<i>R. adenotrichus</i>	Aragua
7	El Picacho	10°24'24,12"	67°18'41,54"	2.198	<i>R. adenotrichus</i>	Aragua
8	Los Loros	08°0'52,7"	72° 8'26,5"	2.328	<i>R. adenotrichus</i>	Táchira
9	El Picacho	10°24'24,12"	67°18'41,54"	2.198	<i>R. adenotrichus</i>	Aragua
10	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. adenotrichus</i>	Táchira
11	Pregonero	08°01'22"	71°45'32"	1.500	<i>R. adenotrichus</i>	Táchira
12	Angarabeca	07°59'53,4"	72°9'1,30"	2.454	<i>R. glaucus</i>	Táchira
13	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
14	Angarabeca	07°59'39,24"	72°12'40,7"	2.447	<i>R. glaucus</i>	Táchira
15	Angarabeca	07°59'39,24"	72°12'40,7"	2.447	<i>R. glaucus</i>	Táchira
16	Angarabeca	07°59'39,24"	72°12'40,7"	2.447	<i>R. glaucus</i>	Táchira
17	San Vicente	07°30'17,3"	72°20'32,4"	1.796	<i>R. glaucus</i>	Táchira
18	La Cúspide	08°02'28,2"	72°8'36"	1.973	<i>R. glaucus</i>	Táchira
19	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
20	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
21	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
22	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
23	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
24	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
25	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
26	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
27	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
28	Los Loros	08°0'52,7"	72°8'26,5"	2.328	<i>R. glaucus</i>	Táchira
29	Ventorrillo	08°18'26,41"	77°53'33,38"	1.895	<i>R. glaucus</i>	Táchira
30	San Simón	08°18'49,50"	77°53'20,17"	1.719	<i>R. glaucus</i>	Táchira
31	San Simón	08°18'49,50"	77°53'20,17"	1.719	<i>R. glaucus</i>	Táchira
32	Pueblo Hondo	08°15'13,89"	77°54'42,63"	2.388	<i>R. glaucus</i>	Táchira
33	Pueblo Hondo	08°15'13,89"	77°54'42,63"	2.388	<i>R. glaucus</i>	Táchira
34	Pueblo Hondo	08°15'13,89"	77°54'42,63"	2.388	<i>R. glaucus</i>	Táchira

..!... continúa

.../... continuación Cuadro 1.

Muestra	Localidad	Latitud	Longitud	Altitud (m)	Especie	Estado
35	Pueblo Hondo	08°15'13,89"	77°54'42,63"	2.388	<i>R. glaucus</i>	Táchira
36	Vega Grande	07°28'36"	72°20'59,1"	2.030	<i>R. glaucus</i>	Táchira
37	Vega Grande	07°28'36"	72°20'59,1"	2.030	<i>R. glaucus</i>	Táchira
38	Vega Grande	07°28'36"	72°20'59,1"	2.030	<i>R. glaucus</i>	Táchira
39	Palma y Oso	07°33'11"	72°25'53,4"	1.924	<i>R. glaucus</i>	Táchira
40	Palma y Oso	07°33'11"	72°25'53,4"	1.924	<i>R. glaucus</i>	Táchira
41	Palma y Oso	07°33'11"	72°25'53,4"	1.924	<i>R. glaucus</i>	Táchira
42	Villa Páez	07°29'28"	72°26'39,6"	2.217	<i>R. glaucus</i>	Táchira
43	Villa Páez	07°29'28"	72°26'39,6"	2.217	<i>R. glaucus</i>	Táchira
44	Angarabeca	07°59'39,4"	72°9'7,67"	2.447	<i>R. glaucus</i>	Táchira
45	Angarabeca	07°59'39,4"	72°9'7,67"	2.447	<i>R. glaucus</i>	Táchira
46	S. J. del Valle	08°40'50,3"	71°05'57,4"	2.215	<i>R. glaucus</i>	Mérida
47	BellaVista	08°42'42,8"	71°04'43,6"	2.517	<i>R. glaucus</i>	Mérida
48	BellaVista	08°42'42,8"	71°04'43,6"	2.517	<i>R. glaucus</i>	Mérida
49	Las Cuadras	08°40'18,6"	71°06'24,3"	2.162	<i>R. glaucus</i>	Mérida
50	Monterrey	08°39'59"	71°06'3,9"	2.116	<i>R. glaucus</i>	Mérida
51	Betijoque	08°16'33,1"	71°55'52,5"	1.892	<i>R. glaucus</i>	Táchira
52	Pregonero	08°01'22"	71°45'32"	1.500	<i>R. glaucus</i>	Táchira
53	Pregonero	08°01'22"	71°45'32"	1.500	<i>R. glaucus</i>	Táchira
54	Pregonero	08°01'22"	71°45'32"	1.600	<i>R. glaucus</i>	Táchira
55	Bramón	07°39'26"	72°14'10"	1.050	<i>R. glaucus</i>	Táchira
56	Bramón	07°39'26"	72°14'10"	1.050	<i>R. glaucus</i>	Táchira
57	Las Cumbres	07°58'02"	72°22'30"	1.700	<i>R. glaucus</i>	Táchira
58	Las Cumbres	07°58'02"	72°22'30"	1.700	<i>R. glaucus</i>	Táchira
59	Las Cumbres	07°58'02"	72°22'30"	1.700	<i>R. glaucus</i>	Táchira
60	Cruz Verde	10°24'21,67"	67°17'21,7"	1.789	<i>R. glaucus</i>	Aragua
61	Las Cumbres	07°58'02"	72°22'30"	1.700	<i>R. idaeus</i>	Táchira
62	Cruz Verde	10°24'21,67"	67°17'21,7"	1.789	<i>R. glaucus</i>	Aragua
63	Pregonero	08°01'22"	71°45'32"	1.500	<i>R. glaucus</i>	Táchira
64	Cruz Verde	10°24'21,67"	67°17'21,7"	1.789	<i>R. glaucus</i>	Aragua
65	Cruz Verde	10°24'21,67"	67°17'21,7"	1.789	<i>R. glaucus</i>	Aragua
66	Cruz Verde	10°24'21,67"	67°17'21,7"	1.789	<i>R. idaeus</i>	Aragua

Cuadro 2. Marcadores microsatélites utilizados y temperaturas de alineamiento.

Iniciador	Secuencia	Alineamiento (°C)
mRACIRRI1G3 <sup>1</sup>	F:CTCTACAAAAGGATCTGCATGA R:CAGCAAAAAGTGAAATGGTTCA	43
CHE1AY500562 <sup>2</sup>	F:ATTTGGAAGTGGTTGAATGCGGCGG R:TATCTTCTTTATAGTCCTTAGG	43
CHE3AY500565 <sup>2</sup>	F:TCATCATAGGCGTGGAGCTAGTG R:CTGTTCTAGAGAGCTGTGACCG	52
CHE5AY500570 <sup>2</sup>	F:CAAAACAAACAACAGACCATTATAC R:CCATTTGAGTAAGAAGTTAATTAG	45
CHE6AY500571 <sup>2</sup>	F:AGGGGGTGAAGCTAAGGAAGGGGG R:TGTGATTTGCATTCTTTATTACAGC	46
CHE7AY500573 <sup>2</sup>	F:CGCCAACTAATCAACCAAACG R:GTCCTCACATTGCTTACGCC	52
CHE8AY500574 <sup>2</sup>	F:AATGAACTTACCGCTCCACGATGG R:CCTCCTTCATTGCTGTTGACGG	52
CHE9AY500575 <sup>2</sup>	F:TAAGTTGTGGAGAGATATAGTCACG R:GACTTGGTGTCTTCATTGAGTGGG	49
CHE10AY500 577 <sup>2</sup>	F:ACCATCAGAATTTACCCACCACCC R:ATCATCATCAACAGAGTCTCCC	51
CHE12AY500 582 <sup>2</sup>	F:ATCGGGGATTTGGTGTGGGTTTAGG R:ATTGTGTGCATCACTCTGAGAACCG	52
CHE13AY500 586 <sup>2</sup>	F:ACGGCTTAGTCGTGGTCCAAATTCC R:GAGAACACCTTATGTGAAAAGTTGC	50
CHE14AY500 587 <sup>2</sup>	F:AGAGAGAAGTGTGACAGTGAGCTGG R:GTTGTA ACTATG TACTGCTACTCCC	49
CHE15AY500 589 <sup>2</sup>	F:ACAGCCGTCAACAAC TTTTACCGCC R:TAACACAACCACAACAATTACACC	47
Rg A6 <sup>3</sup>	F:AGCGCAAGGACTTCTACC R:TTCAGCTCCGGTAGTAGC	56
Rg A12-1 <sup>3</sup>	F:TCATGTCATGTTTCGTGTG R:CTAACACGCGATAGAATAGG	48
Rg D7 <sup>3</sup>	F:AACCATCGGTGTCGACCTC R:GGCTCTTGACCGGTA ACTTAG	58

Se calculó el coeficiente de correlación cofenética (CCC) como medida de la confiabilidad del análisis de agrupamiento UPGMA (Rohlf y Sokal, 1981) y se realizó el análisis de coordenadas principales (Sneath y Sokal, 1973) con el programa InfoStat Profesional versión 1.1. (Di Rienzo *et al.*, 2007).

Se realizó un análisis de procrustes generalizados con los datos de caracterización morfológica (Roa, 2014) y molecular de 9 muestras de *R. glaucus*, 1 muestra de *R. idaeus* y 1 muestra de *R. adenotrichus*, colectadas en el estado Táchira (Cuadro 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 16 marcadores SSR evaluados, seis resultaron polimórficos y fueron seleccionados para la caracterización molecular, por sus bandas polimórficas, claras y definidas (Cuadro 3).

Se obtuvieron en total 18 bandas polimórficas, con un promedio de 2,83 alelos por locus y tamaños entre 100 y 225 pb, estos resultados son consistentes con los de Lopes *et al.* (2006), para los iniciadores CHE8 AY500574 y CHE10AY500577 quienes alcanzaron tamaños de bandas dentro de estos rangos, aunque el número de alelos para estos loci fue mayor.

En cuanto al iniciador mRaCIRRI1G3, otros autores reportaron resultados similares, Marulanda *et al.* (2006 y 2011) obtuvieron 3 alelos y tamaños de banda cuyo rango osciló entre 195 y 265 pb con un PIC de 0,5473; mientras que Amsellem *et al.* (2001) mencionan un promedio de 2,4 alelos por locus entre 195 y 265 pb, lo cual confirma la utilidad de este iniciador para estudios de variabilidad genética en especies de *Rubus*.

El iniciador CHE8AY500574 fue el que presentó el mayor PIC, mientras que CHE5 AY500570 y RgA12-1 presentaron la mayor cantidad de alelos por locus. Los microsatélites que resultaron polimórficos, tienen potencial utilidad para caracterizar gemoplasma de *Rubus*, por lo

cual pueden ser seleccionados de acuerdo a la información que proporcionaron.

En el análisis por el método WARD y el de agrupamiento, se observó la formación de dos grupos con una distancia de 160. En el primer grupo se ubicaron solo genotipos de *R. glaucus* de los estados Táchira, Mérida y Aragua, con la excepción del genotipo 66 (*R. idaeus* de Aragua) y la mayor distancia fue de 25. El segundo grupo se conformó por dos subgrupos, en el primero se ubicaron los genotipos silvestres *R. idaeus*, *R. niveus* (colectados en Táchira), *R. adenotrichus* (colectados en Táchira y Aragua) y genotipos cultivados de *R. glaucus* colectados en Táchira; y el otro subgrupo se conformó con genotipos de *R. glaucus* colectados en Táchira y el genotipo 47 de *R. glaucus* colectado en el estado Mérida.

No se observó agrupación de genotipos de acuerdo a su ubicación geográfica (Figura 1).

El valor del CCC fue 0,725, lo cual demuestra que hubo poca distorsión entre el modelo propuesto y los datos analizados.

La agrupación de genotipos de diferentes subgéneros en un mismo subgrupo se debió a la similitud taxonómica que existe entre los subgéneros, dependiendo del marcador que participó en la delimitación del subgrupo, tal como señala Cancino *et al.* (2012).

Cuadro 3. Nombre, número de alelos, contenido de información polimórfica (PIC) y tamaño de los fragmentos obtenidos con los seis microsatélites.

Locus	N° de alelos	PIC	Tamaño (pb)
RgA6	2	0,60	150-175
CHE8 AY500574	2	0,92	200-225
CHE5 AY500570	4	0,89	175-225
mRaCIRRI1G3	3	0,65	175-200
CHE10AY500577	3	0,90	100-125
RgA12-1	4	0,84	176-215

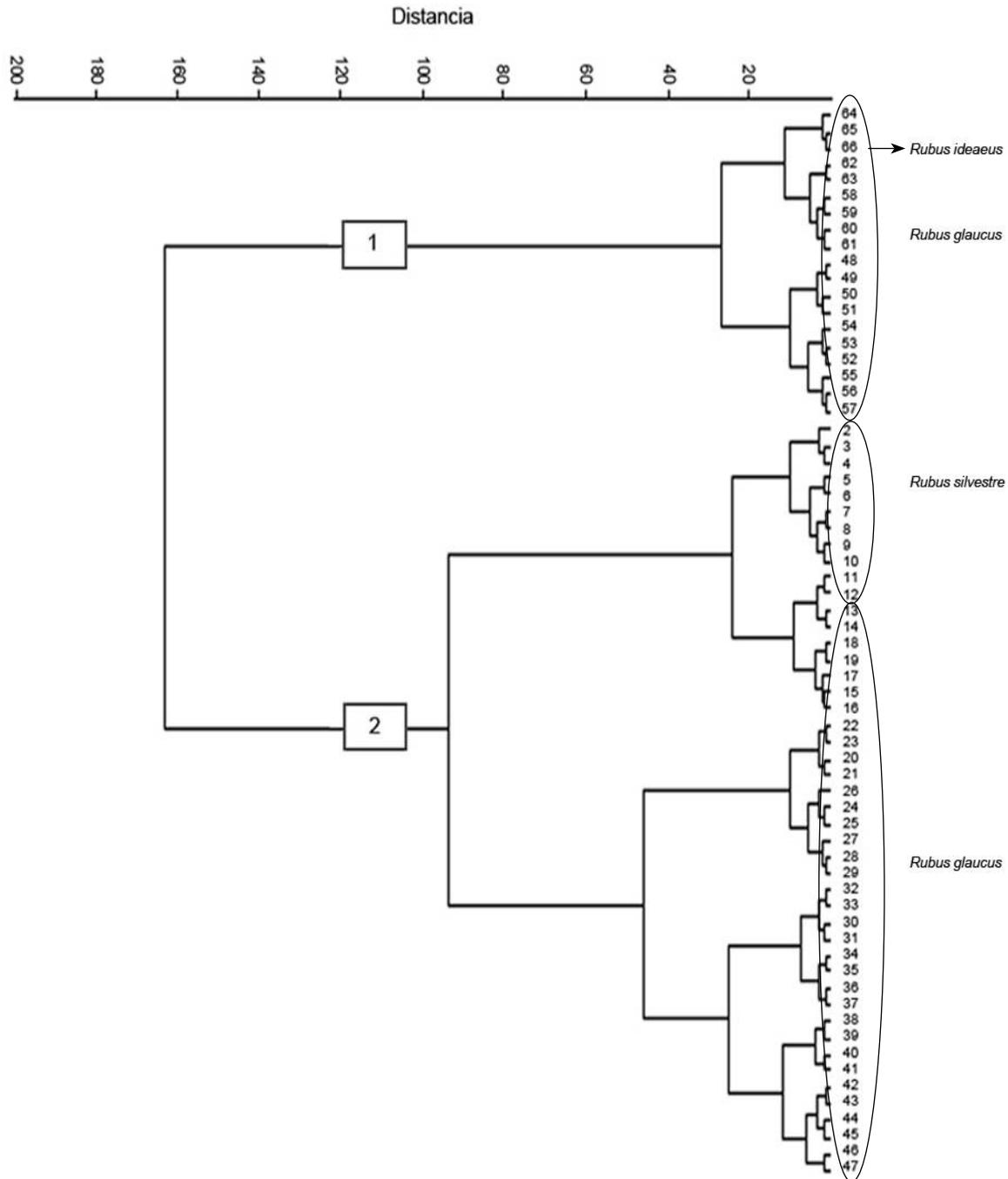


Figura 1. Análisis de conglomerados para los genotipos de *Rubus* estudiados utilizando el método WARD.

En el análisis de coordenadas principales empleando dos componentes, se observaron resultados similares al análisis de conglomerados, formándose dos grupos. Mediante este análisis se explicó el 33,5% de la variabilidad genética total (Figura 2).

En el análisis de procrustes generalizado, el consenso entre la ordenación de los datos genéticos y la obtenida a partir de los datos morfológicos fue 78,6%, lo cual mostró la concordancia entre la caracterización morfológica y la caracterización molecular.

Entre los factores que pudieran ser la causa para explicar la similitud entre los genotipos de *Rubus* estudiados se tiene: la utilización de iniciadores de las especies *R. alceifolius* y *R. hochstetterorum*, los cuales han empleado con éxito en la especie *R. idaeus* (excepto RgA12-1 y RgA6 obtenidos de *R. glaucus*); las regiones amplificadas corresponden a regiones muy conservadas; se incluyeron pocas muestras de los estados Mérida y Aragua; las especies estudiadas son de polinización abierta,

aunque también se observó apomixis (Nybom, 1995; Marmolejo, 2010); posible hibridación interespecífica; las especies silvestres crecen muy cerca de los lotes comerciales de *R. glaucus*; muchos de los genotipos de *R. glaucus* muestreados, comparten nichos ecológicos similares; además, los productores propagan la especie *R. glaucus* principalmente por estacas e intercambian este material de siembra dentro de los estados muestreados y entre ellos; también se siembran plantas que hayan crecido de semillas germinadas en los propios lotes del cultivo.

Los factores mencionados han sido reportados por otros autores como causantes de la similitud entre genotipos de especies silvestres y cultivados de *R. glaucus* (Garrido *et al.*, 2010; Marulanda *et al.*, 2007, 2011) y entre genotipos cultivados de *R. glaucus* (Espinosa, 2011).

Marulanda *et al.* (2012) caracterizaron molecularmente 44 genotipos de *R. glaucus* con y sin espinas, cultivados y no cultivados, el valor obtenido para la similitud fue casi 90% para los

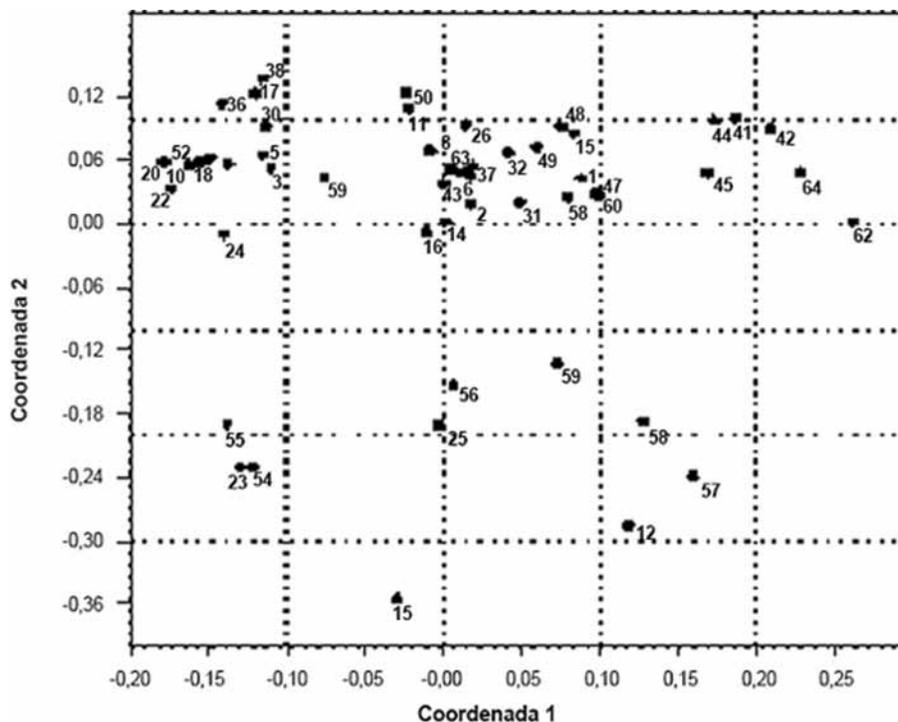


Figura 2. Análisis de coordenadas principales para los genotipos de *Rubus*, basado en la distancia de DICE.

genotipos cultivados y el análisis de agrupamiento basado en las distancias genéticas, no dependió de sus sitios de origen; los genotipos silvestres se separaron de los cultivados y los genotipos sin espinas se ubicaron en diferentes grupos.

### CONCLUSIONES

El empleo de los marcadores moleculares microsatélites para caracterizar la variabilidad genética presente en genotipos de *Rubus*, es una herramienta útil que permitió determinar el grado de similitud genética entre los genotipos estudiados.

Los resultados de este trabajo permitirán seleccionar los padres ubicados en alguno de los dos grupos resultantes del análisis de conglomerados para iniciar un programa de mejoramiento genético, seleccionando las especies más divergentes. Así como, lograr transferir aquellas características de importancia a partir de las especies cultivadas relacionadas y materiales silvestres, con la finalidad de producir variedades adaptadas a nuevos patrones de consumo, cultivo y cambio climático.

Se recomienda utilizar mayor número de marcadores específicos de *R. glaucus*, con el objetivo de estudiar más detalladamente la variabilidad genética presente en los cultivares sembrados en cada zona de producción.

Es necesario continuar con los trabajos de localización y caracterización morfológica y molecular de germoplasma de *Rubus*, para diseñar estrategias de conservación de especies silvestres, tanto *ex situ* como *in situ*, a fin de garantizar la preservación y uso eficiente de recursos genéticos disponibles en la obtención de nuevos cultivares.

### LITERATURA CITADA

- Amsellem L., C. Dutech and N. Billotte. 2001. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in *Rubus alceifolius* Poir. (*Rosaceae*), an invasive weed in La Reunion Island. *Molecular Ecology Resources* 1(1-2):33-35.
- Anderson J.A., G.A. Churchill, J.E. Autrique, S.D. Tanksley and M.E. Sorrells. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36(1):181-186.
- Asofeifa A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2):221-242. (ISSN: 1021-7444).
- Avilán L., F. Leal y D. Batista. 1992. Manual de fruticultura. Editorial América. Caracas, Venezuela. 1.464 p. (ISBN 980-6131-29-0).
- Ballington J.R., M. Lutein, K. Thompson, K. Romoleroux and R. Castillo. 1993 *Rubus* and acciniaceous germplasm resources in the Andes of Ecuador. *Plant Genetic Resources Newsletter* 93:9-15.
- Bautista, D. 1977. Observaciones sobre el cultivo de la mora (*Rubus glaucus* Benth) en los andes venezolanos. *Agronomía Trop.* 27(2):253-260.
- Bonstein D., R. White, M. Skolnick and R. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics* 32:314-331.
- Cancino G., L. Sánchez, E. Quevedo y C. Díaz. 2011. Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum* 16(3):219-233.
- Cancino G., D. Barbosa y C. Diaz. 2012. Diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá región nororiental de Colombia. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas Universidad de Pamplona*. ISSN (versión impresa) 0120-4211. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.id90326398002>. [Ago. 15, 2013].
- Darrow G. 1952. *Rubus glaucus*, the Andes blackberry of Central America and Northern South America. *Ceiba* 3:97-101.
- Ewel J., A. Madriz y J. Tosi. 1976. Zonas de vida de Venezuela. MAC FONAIAP. 2da. Edición. Caracas. Venezuela. 270 p.

- Espinosa N. 2011. Evaluación morfoagronómica y caracterización molecular de la colección de mora de CORPOICA y materiales del agricultor. Tesis. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Escuela de Posgrado. Bogotá, Colombia.
- Di Rienzo J., M. Balzarini, F. Casanoves, L. González, M. Tablada, C. Robledo. 2007. InfoStat. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Franco G. y M. Giraldo. 2000. El cultivo de la mora. Manizales, Colombia. 130 p. (ISBN 958-96720-0-0).
- Garrido P., W. Vásquez y E. Morillo. 2010. Análisis de la diversidad genética de la mora cultivada (*Rubus glaucus* Benth) y especies emparentadas en zonas productivas del Ecuador mediante marcadores moleculares. Centro Internacional de Agricultura Trop. Disponible en línea: [http://www.fontagro.org/sites/default/files/stecnico/final\\_infotec\\_06\\_16.pdf](http://www.fontagro.org/sites/default/files/stecnico/final_infotec_06_16.pdf). [Oct. 10, 2012].
- Hammer Ø., D. Harper and P. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1):1-9. 178 Kb. Disponible en línea: [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm). [Oct. 08, 2012].
- Hernández S. 1998. Gran Enciclopedia de Venezuela. 1:119-137. Editorial Globe. Venezuela
- Jennings D.L. 1988. Raspberries and blackberries: Their breeding, diseases and growth. Academic Press, New York, 230 p.
- Laurentin H. 2009. Data análisis for characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 56:277-292.
- Lopes M.S., G. Belo Maciel, D. Mendonça, F. Sabino Gil and A. Da Cámara Machado. 2006. Isolation and characterization of simple sequence repeat loci *Rubus hochstetterorum* and their use in other species from the *Rosaceae* family. *Molecular Ecology* 6(3):750-752.
- Marshall B., R.E. Harrison, J. Graham, J.W. McNicol, G. Wright and G.R. Squire. 2001. Spatial trends of phenotypic diversity between colonies of wild raspberry *Rubus idaeus*. *New Phytologist* 151(3):671-682
- Marulanda M.L., A.M. López y S.B. Aguilar. 2006. Diversidad genética del género *Rubus* presente en la región cafetera, Colombia. pp. 14-40. In: VI Seminario Internacional de Frutas Tropicales, Abstracts Book. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Marulanda M.L., A.M. López y S.B. Aguilar. 2007. Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7:242-252.
- Marulanda M.L., A.M. López and M. Uribe. 2011. Genetic Diversity and transferability of *Rubus* microsatellite markers to south american *Rubus* species, The Molecular Basis of Plant Genetic Diversity. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-50154, Disponible en línea: [http://www.intechopen.com/books/the\\_molecular\\_basis\\_of\\_plant\\_genetic\\_diversity](http://www.intechopen.com/books/the_molecular_basis_of_plant_genetic_diversity). [May. 05, 2010].
- Marulanda M.L., A.M. López and M. Uribe. 2012. Molecular characterization of de andean blackberry, *Rubus glaucus*, using SRR markers. *Genetic and Molecular Research* 11(1):322-331.
- Marmolejo D. 2010. Evaluación de apomixis en germoplasma seleccionado de mora de castilla *Rubus glaucus* Benth. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en línea: [http://www.bdigital.unal.edu.co/3696/1/7208003.2010\\_capitulo1a14\\_pag1a41.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/3696/1/7208003.2010_capitulo1a14_pag1a41.pdf) [Ago. 15, 2014].
- Morillo C., A. Morillo, Y. Muñoz, J. Vásquez, H. Herney y H. Zamorano. 2005. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMS de la colección de mora, *Rubus* spp., de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. *Acta Agronómica*. 54(2):15-24.
- Nybom H. 1995. Evaluation of interspecific crossing experiments in facultatively apomictic blackberries (*Rubus* subgen. *Rubus*) using DNA fingerprinting. *Hereditas* 122:57-65.

- Posso D. y T. Ghneim. 2008. Uso de marcadores microsatélites para la estimación de diversidad genética en plantas. Manual de laboratorio. Caracas, Venezuela. 72 p. (ISBN: 978-980-261-093-8).
- Posso D. y T. Ghneim. 2009. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de poliacrilamida. Protocolos de laboratorio UEG Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe. Venezuela. Disponible en línea: <http://www.ivic.gob.ve/ecologia/ueg/>. [Ago. 08, 2012].
- Quantity One®. Disponible en línea: [www.uvic.ca/medsci/assets/docs/research-facilities/quantity-one-user-guidel.pdf](http://www.uvic.ca/medsci/assets/docs/research-facilities/quantity-one-user-guidel.pdf). [Jul. 07, 2012].
- Roa S. 2014. Variabilidad genética en mora (*Rubus* spp.) presente en los estados Táchira, Mérida y Aragua y su conservación *in vitro*. Tesis doctoral. Escuela Socialista de Agricultura Tropical. Maracay, Venezuela. 103 p.
- Roa S., C. Barboza y A. Zambrano. 2010. Estabilidad del rendimiento de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) para procesamiento industrial en el estado Táchira, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 27(2):173-192.
- Rohlf F. and R. Sokal. 1981. Comparing numerical taxonomic studies. Systematic Zoology 30:450-490.
- Salvini D., S. Fineschi, R. Pastorell, F. Sebastiani and G. Vendramin. 2006. Absence of geographic structure in european populations of *Rubus fruticosus* L. complex using chloroplast DNA Microsatellites. Journal of the American Society for Horticultural Science 131(5):616-621.
- Schuster I., E. Serra, J. Da Silva, F. Franco, V. Machioro. 2009. Genetic variability in brazilian wheat cultivars assessed by microsatellite markers. Genetics and Molecular Biology 32(3):557-56.
- Sneath P. and R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. San Francisco. Freeman and Co Ltd. 573 p.
- Spooner D., R. van Treuren and M. De Vicente. 2005. Molecular markers for genebank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.

## Evaluación y selección participativa de cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp

### Participatory evaluation and selection of cultivars of *Vigna unguiculata* (L.) Walp

Gelis Torrealba-Núñez<sup>1\*</sup>, Reina Yovanny<sup>2</sup>, Oralys León-Brito<sup>3</sup>, Getssy Martínez Zapata<sup>1</sup>, Atilio Higuera Moros<sup>4</sup> y Teomer Sáez<sup>2</sup>

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) <sup>1</sup>Guárico y <sup>3</sup>Monagas.

<sup>2</sup>Instituto Universitario de Tecnología de Los Llanos-Núcleo Calabozo, estado Guárico.

<sup>4</sup>Universidad del Zulia (LUZ). Maracaibo, estado Zulia.

Correo electrónico: gelistorrealbaarroz@gmail.com\*, reinayovanny1@gmail.com, teomersaeza@gmail.com, oralys927@gmail.com, getssycarolina@gmail.com, atiliohiguera@fa.luz.edu.ve

#### RESUMEN

El frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] es considerado un rubro estratégico en Venezuela. El objetivo de la investigación fue identificar la preferencia entre 16 cultivares de frijol, mediante evaluación, selección participativa y comportamiento agronómico. La siembra se realizó en la localidad de Reubicación, Calabozo, estado Guárico, en el ciclo 2012-2013, establecida en un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. El método participativo utilizado fue la evaluación absoluta, considerando los criterios de preferencia, ejecutado 60 días después de la siembra y determinándose el índice de preferencia. Al momento de la cosecha se evaluó el rendimiento por parcela y sus componentes. Los datos fueron procesados mediante un análisis de varianza, prueba de medias MDS y correlación de Pearson. La longitud de la vaina estuvo en un rango de 10,84 a 17,43 cm; correspondiendo el mayor valor al cultivar "I-552". Los mayores valores de peso de 100 semillas fueron de 25,87 y 20,60 g de los cultivares "I-595" y Guajirero, respectivamente. Los cultivares con mayor número de vainas por planta fueron "I-578" y Catatumbo con valores de 8,00 y 7,67, respectivamente. El análisis de correlación de Pearson para rendimiento y sus componentes, permitió determinar asociación positiva y altamente significativa entre longitud de vaina y número de semillas por vaina. El cultivar I-578 resultó con el mayor rendimiento (821 g parcela<sup>-1</sup>) e índice de preferencia (IP= 3,8). La participación de agricultores con los fitomejoradores conlleva a la evaluación y selección de cultivares, que facilitaría la posterior adopción de las nuevas variedades.

**Palabras clave:** rendimiento, fitomejoramiento participativo.

#### ABSTRACT

Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] is considered a strategic crop in Venezuela. The aim of the research was to identify the preference of farmers among 16 cultivars of cowpea using participatory evaluation and selection, based on agronomic performance. Plots were planted in Reubicación, Calabozo, Guárico state during 2012-2013 cycle, using an experimental lattice design 4 x 4 with three replications. The participatory approach used was the absolute evaluation, considering the preference criteria, implemented 60 days after planting, when the preference index (IP) was determined. At the time of harvest, yield per plot and its components were evaluated. Data were processed by analysis of variance, MDS test of means and Pearson correlation. Length sheath was within a range of 10.84 to 17.43 cm, the highest value corresponding to cultivar "I- 552". Greater weight values of 100 seed were 25.87 g and 20.60 g of cultivars "I- 595" and Guajirero respectively. The cultivars with the highest number of pods per plant were "I- 578" and Catatumbo with values 7.67 and 8.00 respectively. Pearson correlation analysis for yield and its components, revealed positive and highly significant association between pod length and number of seeds per pod. The cultivar "I- 578" had the highest yield (821 g plot<sup>-1</sup>) and preference index (IP= 3.8). The participation of farmers along with breeders led to the evaluation and selection of cultivars, which can be more easily adopted as new varieties.

**Key words:** yield, participatory plant breeding.

## INTRODUCCIÓN

El Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Innovación, en el área soberanía y seguridad alimentaria, de la convocatoria de proyectos de investigación 2011-2012, contempló garantizar el acceso estable y oportuno a los alimentos en la calidad y cantidad necesaria para satisfacer los requerimientos de toda la población. Al respecto, el mejoramiento genético de plantas, juega un papel relevante en el proceso de obtención de nuevos cultivares de acuerdo a las necesidades de los agricultores y donde el frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] es considerado un rubro estratégico.

El frijol es una leguminosa de importancia nutritiva, por su contenido de proteína (23%), carbohidratos (56%), grasa (25%), fibra, minerales y vitaminas, siendo beneficioso como suplemento de estos requerimientos en la población de escasos recursos. Es un cultivo de interés socioeconómico, no solo por el uso directo de sus semillas (verdes o secas) y frutos verdes o legumbres en la alimentación humana, sino también por su aprovechamiento como mejorador de los suelos, al ser utilizado como abono verde, cobertura, asociación, y para la rotación de cultivos, por su aporte de nitrógeno mediante simbiosis con bacterias del suelo (Pérez *et al.*, 2013; Valladares, 1998).

Según estadísticas oficiales, en Venezuela la superficie de siembra y la producción anual de este cultivo fue superior a la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) durante los años 2002 al 2005 y 2010, a pesar de que esta última es de mayor tradición y consumo en todo el territorio nacional. Posiblemente, el incremento de la superficie cultivada de frijol frente a la caraota se relaciona con sus características de adaptación y rusticidad, menores exigencias climáticas y menor incidencia de plagas (Pérez *et al.*, 2013).

En este sentido, Delgado *et al.* (2010) indican que el cultivo de frijol tiene un valor estratégico porque puede soportar condiciones adversas de elevadas temperaturas del aire y bajas precipitaciones, que acompañan los cambios climáticos globales y que podrían afectar la agricultura en el país.

Las variedades más populares en el país liberadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), incluyen "Tuy", "Apure" y

"Unare". Existen otras de uso común como Ojo Negro, Frijol Chino y Cuarentón, que contribuyen a mantener el consumo de este grano (Salas, 2009). Sin embargo, la más cultivada es la denominada Tuy, elegible para la producción de semilla certificada desde hace más de 30 años. Esto indica la necesidad de generar nuevos cultivares de frijol que se adapten a zonas específicas que satisfagan los gustos de consumo de las poblaciones locales, de tal manera que sean de beneficio para los agricultores.

Para tal fin, es trascendental que en los programas de mejoramiento genético se considere la metodología de mejoramiento participativo de cultivos, donde se involucren a los agricultores y a otros participantes de la cadena productiva, en la evaluación y selección de variedades o líneas mejoradas, con el apoyo de técnicos e investigadores (Garver *et al.*, 2008). Esto se trata de una colaboración dinámica y permanente, que aprovecha las ventajas comparativas de las instituciones de investigación agrícola, de los agricultores y otros posibles socios para desarrollar nuevas variedades, según lo descrito por Cecarelli (2012).

Por otra parte, Salazar y Rosabal (2007) consideran el fitomejoramiento participativo como una perspectiva para el desarrollo rural, donde la experiencia de innovación social es con intervención de los agricultores.

El éxito de la evaluación con agricultores, depende, en parte, de una buena planificación, donde los investigadores necesitan definir por qué se proponen realizarla y qué tecnología o alternativas tecnológicas se deben incluir para lograr los objetivos que se planteen (Quirós *et al.*, 1992). En este sentido, Guerrero *et al.* (1996) sugieren la metodología de evaluación absoluta, que consiste en evaluar cada alternativa tecnológica independientemente de las demás tecnologías del conjunto.

Morros y Pire (2003) señalan que incorporar a los agricultores en la evaluación de genotipos promisorios de vainita (*P. vulgaris* L.), permitió ponerlos en contacto con las nuevas líneas promisorias y evaluarlas bajo sus condiciones y manejo. Esto deduce que los cultivares seleccionados por ellos, tengan mayor probabilidad de

aceptación y difusión en la zona. Salas (2006) señala que el agricultor evalúa cada elemento y da una opinión favorable o desfavorable, que permite definir los criterios de selección o descarte al momento de evaluar el germoplasma.

El objetivo de la presente investigación fue identificar la preferencia de los agricultores entre 16 cultivares de frijol, mediante evaluación, selección participativa y la determinación de su comportamiento agronómico.

### METODOLOGÍA

El trabajo se realizó entre los meses de diciembre 2012 y febrero 2013, en la localidad de Reubicación, Calabozo, estado Guárico, con coordenadas de latitud norte 9°03'00" y longitud oeste 67°26'23" y altitud de 120 m.s.n.m. La zona se caracteriza por una temperatura y precipitación promedio anual de 27,5 °C y 1.476 mm, respectivamente.

Previo al establecimiento del ensayo de frijol se colectaron 10 submuestras de suelo a una profundidad de 0 a 20 cm, que se mezclaron para formar la muestra compuesta para su análisis con

finde de fertilidad y contenido de microelementos. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Suelos del INIA-Guárico, resultando en un suelo de textura franco-limosa; pH 6,7; materia orgánica de 2,77% (media) y porcentaje de elementos nutritivos de medio a muy alto. Las condiciones climáticas durante los meses del ensayo en campo, se presentan en el Cuadro 1.

Se evaluaron 16 cultivares seleccionados por el color de la semilla tipo bayo (Cuadro 2), constituido por 11 genotipos del banco de germoplasma del INIA, en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). De igual manera, dos variedades del programa de mejoramiento de la Universidad del Zulia con elegibilidad otorgada por el Servicio Nacional de Semillas (SENASA) y dos cultivares locales del Zulia y la variedad comercial Tuy como testigo. Estos fueron establecidos en campo en un diseño estadístico de bloques al azar con tres repeticiones, en arreglo de Lattice 4 x 4 (Cochran y Cox, 2001).

Las unidades experimentales estuvieron conformadas por cuatro hileras de 4 m de largo, con una separación entre hilo de 0,6 y 0,1 m entre plantas, colocándose dos semillas por punto.

Cuadro 1. Condiciones climáticas durante el ensayo de frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] en Reubicación, Calabozo, estado Guárico. Diciembre 2012-febrero 2013.

Condiciones/mes	Diciembre	Enero	Febrero
Precipitación promedio (mm)	8,1	0,0	0,0
Insolación (horas luz)	7,3	9,1	8,8
Evaporación promedio (mm)	5,9	7,7	9,0
Humedad relativa (%)	72,1	65,7	64,2
Temperatura promedio máxima (°C)	34,2	35,2	35,7
Temperatura promedio mínima (°C)	26,4	26,1	25,1
Temperatura media (°C)	30,3	30,6	30,4

Fuente: INIA, Estación Agrometeorológica "Los Bancos de San Pedro", INIA-Guárico.

Cuadro 2. Cultivares de frijol y su procedencia, evaluados en Calabozo, estado Guárico.

Cultivares		Procedencia	
I-578		Falcón	
I-557		Apure	
I-616		Portuguesa	
I-484		Guárico	
I-577		Falcón	
I-595	Locales	Sucre	Banco germoplasma INIA-CENIAP.
I-533		Yaracuy	
I-556		Apure	
I-576		Falcón	
I-632		Aragua	
I-552		Apure	
Catatumbo	Variedad	Zulia	
Criollo Mara	Variedad	Zulia	Universidad del Zulia (LUZ).
Bayo	Local	Zulia	
Guajiro	Local	Zulia	
Tuy	Variedad	Aragua	Variedad comercial INIA-CENIAP (testigo).

Al momento de la siembra se aplicó 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. El riego empleado fue por gravedad mediante surcos, con una frecuencia de cada 7 días durante el desarrollo del cultivo. El manejo agronómico se realizó con énfasis en la aplicación de bioinsumos, principalmente biofertilizantes, tales como 2 litros ha<sup>-1</sup> de cepa fijadora de nitrógeno simbiótico (*Bradyrhizobium*) más 2 litros ha<sup>-1</sup> de cepa solubilizadora de fósforo, realizando la aplicación a los 15 días después de la siembra (DDS) del cultivo. Se efectuó un manejo integrado de plagas (cultural-etológico y biológico).

Para la evaluación participativa, siguiendo el método de evaluación absoluta (Guerrero *et al.*, 1996), a los 60 DDS, en la fase de maduración del cultivo, se hizo un recorrido inicial en campo, de manera que los agricultores conocieran y notaran el comportamiento integral de los cultivares considerados. Luego, fue empleado un instrumento donde los participantes por observación directa de las parcelas experimentales, podían clasificar los 16 cultivares de frijol, con las categorías de

bueno, regular o malo e indicar los criterios de selección, manifestando su agrado o desagrado sobre cada tratamiento.

Con la información obtenida de la evaluación participativa, se calculó la frecuencia de cada categoría para cada genotipo y se estimó una media ponderada, denominada índice de preferencia (IP), valorado en: bueno 5, regular 3 y malo 1 (Angola y Hernández, 2010; Guerrero *et al.*, 1996).

Una vez cumplido el ciclo del cultivo, se determinó el rendimiento de cada parcela, cosechando los dos hilos centrales, descartando las plantas de los extremos para eliminar el efecto de bordura, registrándose en gramos y ajustados a un 12% de humedad de las semillas; además de los componentes de rendimiento: longitud de vaina (LV), número de semillas por vaina (NSV), número de vainas por planta (NVP) y el peso de 100 semillas (P100S), de acuerdo a Muñoz *et al.* (1993), en 10 plantas seleccionadas al azar en las dos hileras centrales de cada parcela.

Se efectuó un análisis de varianza para rendimiento y sus componentes e índice de preferencia. Las posibles diferencias entre cultivares se detectaron utilizando la prueba de MDS a un nivel de probabilidad de 5%. Se realizó análisis de correlación de Pearson al rendimiento y sus componentes. Los datos fueron procesados con el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

## RESULTADOS Y HALLAZGOS

Los análisis de varianza para rendimiento, detectaron diferencias altamente significativas entre los cultivares evaluados, las cuales se pueden observar en el Cuadro 3, por lo que se procedió a realizar la prueba de media de MDS, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 4.

Para la variable LV, los mejores cultivares resultaron: I-552 (17,43 cm), I-556 (16,43 cm) e I-553 (16,16 cm). Los cultivares con mayor NSV fueron Tuy (14,43), seguido de I-484 (11,42); mientras que para NVP fueron I-578 y Catatumbo con valores de 8,00 y 7,67, respectivamente, resultando estadísticamente iguales. Por su parte, I-595 y Guajirero obtuvieron el mayor P100S, con valores iguales a 25,87 y 20,60 g, respectivamente.

En el Cuadro 5 se observa que los cultivares con mayores rendimientos por parcela fueron I-578, I-557, I-616 e I-484, con valores que oscilaron

desde 820,60 g (1.709,58 kg ha<sup>-1</sup>) hasta 695,10 g (1.448,12 kg ha<sup>-1</sup>). La mayoría de los cultivares de frijol presentaron rendimientos superiores a la variedad comercial Tuy con 383,20 g parcela<sup>-1</sup> (798,33 kg ha<sup>-1</sup>) y el promedio anual en el estado Guárico para el año 2013, de 829,43 kg ha<sup>-1</sup> (UEMPPAT, 2014).

Es importante destacar que estos rendimientos fueron logrados con un manejo agroecológico, minimizando la aplicación de fertilizantes inorgánicos; lo que indica que los cultivares locales que resultaron superiores pueden considerarse en los programas de mejoramiento genético del cultivo.

El cultivar I-578 resultó el más preferido por los agricultores con IP de 3,88; seguido de los cultivares I-616 (IP=3,63), I-595 (IP=3,58), I-576 (IP=3,42), I-557 (IP=3,33) y el I-484 (IP=3,29). Los resultados reflejan que los agricultores seleccionaron los genotipos de frijol con mayor potencial de rendimiento.

Esta participación de agricultores con los fitomejoradores que conllevó a la evaluación y selección de dichos cultivares, destacó la coincidencia entre los materiales más rendidores y los seleccionados por los agricultores (Cuadro 5).

Entre los criterios de selección que resaltaron en la preferencia por los agricultores fueron: el porte erecto de la planta, maduración precoz y uniforme, tamaño y NVP, concordando con los reportados por De Gouveia *et al.* (2005, 2007) e Higuera (2005).

Cuadro 3. Cuadrados medios de los análisis de varianza para rendimiento y sus componentes e índice de preferencia de cultivares de frijol evaluados en Reubicación, Calabozo 2012-2013.

Fuente de variación	Grados de libertad	LV (cm)	NSV	NVP	P100S (g)	Rendimiento (g parcela <sup>-1</sup> )	IP
Cultivares	15	12,55**	15,17**	8,98**	32,02**	75.589,28**	1,10**
Repetición	2	4,37*	2,29 N.S.	1,75 N.S.	4,00*	17.168,58 N.S.	0,27 N.S.
Error	30	1,11	0,72	0,86	0,89	14.438,82	0,28
Total	47						
CV (%)		7,87	9,50	23,20	5,59	22,04	17,62

LV= Longitud de la vaina; NSV= Número de semillas por vaina; NVP= Número de vainas por planta; P100S= Peso de 100 semillas; Rend= Rendimiento; IP= Índice de Preferencia; N.S.= no significativo, \*\*= altamente significativo, \*=significativo; CV= Coeficiente de variación.

Cuadro 4. Prueba de medias para componentes de rendimiento de 16 cultivares de frijol, evaluados en la localidad Reubicación, Calabozo, estado Guárico en el ciclo 2012-2013.

Cultivares	LV (cm)	NSV	NVP	P100S (g)
Bayo	11,90de	7,42gh	3,67cde	14,93efg
I-552	17,43a	10,90bc	2,67de	18,83c
Guajirero	13,31cd	8,18efg	2,67de	20,60b
TUY	11,00e	14,43a	3,33cde	15,70de
I-576	11,16e	6,62hi	3,00de	15,33def
Catatumbo	10,84e	5,55i	7,67a	20,43bc
I-577	12,03de	7,91fgh	4,67bc	15,27efg
I-616	13,24cd	7,12gh	5,67b	15,30def
I-578	13,27cd	10,11bcd	8,00a	15,30def
I-556	16,43a	10,92bc	2,33e	18,73c
I-595	14,31bc	8,63defg	2,33e	25,87a
Blanco Mara	10,96e	6,62hi	3,67cde	13,57g
I-632	14,52bc	9,33def	3,33cde	13,63fg
I-553	16,16ab	9,43cde	4,00cd	14,87efg
I-557	13,44cd	8,34efg	3,00de	16,80d
I-484	13,80cd	11,42b	4,00cd	14,67efg

Prueba de MDS ( $P \leq 0,05$ ). Letras diferentes en las columnas indican promedios estadísticos diferentes. LV= Longitud de la vaina, NSV= Número de semillas por vaina, NVP= Número de vainas por planta y P100S= Peso de 100 semillas.

Cuadro 5. Rendimiento por parcela e índice de preferencia de 16 cultivares de frijol evaluados en Reubicación, Calabozo, estado Guárico, 2013.

Cultivares	Rendimiento (g parcela <sup>-1</sup> )	Índice de preferencia
I-578	820,60a	3,88a
I-557	800,10ab	3,33abc
I-616	740,77abc	3,63ab
I-484	695,10abcd	3,29abc
I-577	612,80bcde	3,33abc
I-595	609,20bcde	3,58ab
I-533	565,17cdef	3,08abcd
I-556	559,10cdef	2,79bcd
I-576	525,17def	3,42abc

.../... continúa

../... continuación Cuadro 5.

Cultivares	Rendimiento (g parcela <sup>-1</sup> )	Índice de preferencia
Catatumbo	454,27efg	2,33d
I-632	446,70efg	2,75bcd
Guajirero	415,40efg	2,96bcd
I-552	413,77efg	3,08abcd
Bayo	386,10fg	2,75bcd
Tuy	383,20fg	2,67cd
Blanco Mara	294,00g	1,33e
CV (%)	22,04	17,62

Prueba de MDS ( $P \leq 0,05$ ). Letras diferentes en las columnas indican promedios estadísticos diferentes. CV= Coeficiente de variación.

El análisis de correlación de Pearson para rendimiento y sus componentes, permitió determinar asociación positiva y altamente significativa entre LV y NSV, con un valor de 0,39\*\* (Cuadro 6). En este sentido el cultivar I-552 presentó la mayor LV con 17,43 cm y un promedio de 10,90 NSV; siendo estos dos criterios de selección considerados por los agricultores, tal como se mencionó anteriormente.

Este enfoque de investigación participativa, donde los agricultores evalúan y seleccionan los cultivares de su interés, facilita la interacción estrecha entre agricultores, investigadores y otros actores en el proceso de mejoramiento genético de los cultivos; garantizando la posterior adopción de las nuevas variedades por parte de los agricultores, lo que coincide con lo planteado por Morros y Pire (2003) y Salas (2006).

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson para rendimiento y sus componentes de 16 cultivares de frijol evaluado en Reubicación, Calabozo, en el ciclo norte-verano 2012-2013.

Variables	LV (cm)	NVP	NSV	P100S (g)	Rendimiento (g parcela <sup>-1</sup> )
LV (cm)		-0,27 N.S.	0,39**	0,19 N.S.	0,20 N.S.
NVP			-0,25 N.S.	-0,14 N.S.	0,26 N.S.
NSV				-0,06 N.S.	0,05 N.S.
P100S (g)					0,01 N.S.

LV= Longitud de la vaina; NSV= Número de semillas por vaina; NVP= Número de vainas por planta; P100S= Peso de 100 semillas. N.S.: no significativo.

## CONCLUSIONES

El cultivar I-578 presentó el mayor rendimiento y fue el preferido por los agricultores de acuerdo al IP.

La participación de agricultores con los fitomejoradores conlleva a la evaluación y selección de cultivares, que facilita la posterior adopción de las nuevas variedades de frijol.

## AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral (INSAI), estado Guárico, por el aporte de bioinsumos utilizados. A Wilfredo Fortaines del Instituto Universitario de Tecnología de Los Llanos (IUTLL), Calabozo, por su apoyo en el ensayo y a los agricultores que participaron en el proceso de investigación.

## LITERATURA CITADA

- Angola P. C.C. y J.G. Hernández H. 2010. Evaluación agronómica de líneas promisorias de caraota (*P. vulgaris*L.) en un enfoque de mejoramiento genético participativo. Tesis FAGRO-UCV. Departamento de Genética. 70 p.
- Ceccarelli S. 2012. Plant breeding with farmers - A technical manual. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria. 126 p.
- Cochran W. G. y G.M. Cox. 2001. Diseños experimentales. Segunda Edición. Editorial Trillas. México. 661 p.
- De Gouveia M., A. Bolívar, M. López, A. Salih y H. Pérez. 2005. Participación de agricultores en la selección de materiales genéticos de frijol (*Vigna unguiculata*) evaluados en suelos ácidos de la Parroquia Espino, estado Guárico (Venezuela). Cuadernos de Desarrollo Rural 54:113-130.
- De Gouveia M., R. De La Cruz, M. López, W. Álvarez, H. Pérez y J. Bracho. 2007. Selección participativa de accesiones de frijol (*Vigna unguiculata*) en las sabanas de Espino, municipio Leonardo Infante estado Guárico. In: Memorias del XVII Congreso de Botánica. DC-07:461-464.
- Delgado R., E. Cabrera de Bisbal, F. Gámez y L. Navarro. 2010. Efectos del tipo de labranza sobre el suministro del agua y el crecimiento del frijol Tuy en un suelo Mollisol de Venezuela. *Agronomía Trop.* 60(2):177-191.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C.W. Robledo. InfoStat versión 2012. InfoStat Group. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en línea: <http://www.infostat.com.ar>.
- Garver E. E., E. Falcón-Castillo, E. Peralta-Idrovo y J. Kelly. 2008. Encuesta a productores para orientar el fitomejoramiento de frijol en Ecuador. *Agronomía Mesoamericana* 19(1):07-18.
- Guerrero M. del P., J.A. Ashby y T. Gracia. 1996. Evaluación de tecnologías con productores: Ordenamiento de preferencias. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 127 p. (Unidad Instruccional N° 2).
- Higuera A. 2005. El cultivo de frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Aspectos Agronómicos. Cuadros de Extensión N° 2. LUZ. Facultad de Agronomía. Fundacite Zulia. 34 p.
- Morros M.E. y A. Pire. 2003. Evaluación participativa de materiales promisorios de vainita *Phaseolus vulgaris* L. en las zonas alta del estado Lara. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 20:21-33.
- Muñoz G., G. Giraldo y J. Fernández de Soto. 1993. Descriptores varietales: Arroz, frijol, maíz, sorgo, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Publicación N° 177. 173 p.
- Pérez D., N. Camacaro, M.E. Morros y A. Higuera M. 2013. Leguminosas de granos comestible en Venezuela. Ediciones ONCTI. Agricultura en Venezuela No 1. Editor. José Luis Berroterán. 156 p.
- Quirós C.A., T. Gracia y J.A. Ashby. 1992. Evaluaciones de tecnología con productores: metodología para la evaluación abierta. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Proyecto IPRA. Cali, Colombia. 95 p. (Unidad de Instrucción N° 1).

- Salas J.A. 2006. Compartiendo nuestras experiencias en investigación participativa. Caso: Cultivo del melón en San José de los Ranchos. Serie D - N° 5. INIA-Venezuela, Centro de Investigaciones del estado Lara. 31 p.
- Salas M. 2009. Producción artesanal de semilla de frijol. **In:** Manual de Semilla Solidaria, A. Aponte (compilador). Serie D - N° 10. INIA-Venezuela, Maracay. 132 p.
- Salazar L. L. y Y.R. Rosabal N. 2007. "Procesos de Innovación Rural: Una mirada al desarrollo rural desde la reflexión y experiencia de América Latina". Digesa, Lara S.A, Barquisimeto. 426 p.
- Unidad Estatal del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (UEMPPAT) del estado Guárico. 2014. Reporte producción Vegetal 2013. División de Planificación y Estadística. Calabozo, Venezuela.
- Valladares S. N.E. 1998. Mejoramiento genético del frijol. **In:** "Un Programa Integral de Investigación en Leguminosas" (Memorias del Taller realizado en Sartanejas, abril de 1998). Universidad Central de Venezuela. Vicerectorado Académico. pp. 233-238.



## Caracterización morfológica y molecular de poblaciones segregantes de girasol provenientes de híbridos comerciales

### Morphological and molecular characterization of sunflower segregant populations coming from commercial hybrids

Betzabeth Alezones\*, Ana Casanova y Hernán Laurentin

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Decanato de Agronomía. Departamento de Ciencias Biológicas. Barquisimeto, estado Lara. Venezuela.

\*Correo electrónico: betzabeth.alezone@gmail.com

#### RESUMEN

El girasol (*Helianthus annuus* L.) representa una alternativa para la obtención de aceite en Venezuela, lo cual es de gran relevancia ante el marcado déficit en la producción nacional. Como en todo proceso agrícola, la semilla es determinante; sin embargo, en el país, el rubro girasol está sustentado en semilla importada. Esto, hace necesario el inicio de un programa nacional de semilla de girasol, el cual requiere de acciones previas dirigidas al mejoramiento genético. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente tres poblaciones segregantes de girasol provenientes de tres híbridos comerciales, con el fin de determinar su utilidad como poblaciones básicas genéticamente variables para el inicio de ciclos de selección. Se estudiaron 18 variables morfológicas en 120 plantas de cada población segregante, y se utilizaron 5 oligonucleótidos RAPD usando el ADN de 24 plantas en cada población. Mediante la distribución de frecuencias, pruebas de medias y análisis de componentes principales, se determinó la amplia variabilidad morfológica existente dentro de cada población segregante, siendo altura de planta, número de flores radiales en el capítulo y longitud de brácteas del capítulo, los atributos morfológicos más variables. El análisis de coordenadas principales basado en 22 bandas RAPD obtenidas corroboró, la amplia variación dentro de las poblaciones. La variabilidad genética identificada dentro de cada población segregante, las hace candidatas válidas para el inicio de programas de mejoramiento genético, orientados hacia la obtención de cultivares nacionales adaptados a las condiciones de producción venezolana.

**Palabras clave:** *Helianthus annuus* L., mejoramiento genético, híbrido, RAPD, polinización abierta.

#### ABSTRACT

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivation in Venezuela is a suitable alternative to national oil production, which would contribute to overcome a long-time deficit in the country. Seed supply is a critical step in Venezuelan sunflower production, as it is imported; therefore, it is necessary to begin a national seed production program including sunflower breeding programs. The objective of this research was to characterize morphological and molecularly three segregating populations coming from three commercial hybrids, in order to determine its suitability as basic population in future selection schemes. Eighteen morphological variables were recorded on 120 plants coming from three segregating populations, and five RAPD primers were applied using DNA from 24 plants per population. Frequency distribution, mean tests, and principal components analysis revealed a wide morphological variability within each population. Plant height, number of ray flowers, and bract length were the most variable morphological attributes. Principal coordinates analysis based on 22 RAPD fragments also displayed a wide variability within populations. Genetic variability identified by morphological and molecular characterization made segregating populations, coming from commercial hybrids, good candidates to be used as basic population for breeding programs aiming to obtain national cultivars adapted to Venezuelan production conditions.

**Key words:** *Helianthus annuus* L., plant breeding, hybrid, RAPD, open pollinated

## INTRODUCCIÓN

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es una especie cultivada perteneciente a la familia Asteraceae. Es una planta oleaginosa de importancia mundial para la alimentación animal y humana, especialmente por el alto contenido de aceite (40%) que poseen sus aquenios, el cual es considerado uno de los de mayor calidad para el consumo humano y por su composición de ácidos grasos de origen vegetal.

La producción de girasol en Venezuela ha tenido muchos altibajos, no obstante, en los últimos años presentó una tendencia al incremento sostenido en la superficie de siembra, variando desde 30.000 ha en el año 2008, hasta 76.000 ha en el año 2012 (FEDEAGRO, 2014). El alto contenido de aceite que presenta su aquenio, la comprobada adaptación en los llanos del estado Portuguesa y el dominio, que posee el productor, sobre el manejo de este cultivo, hacen del girasol una importante alternativa para contribuir a solventar la grave situación de producción de aceite nacional, la cual no llega a cubrir ni siquiera el 40% de las necesidades del país (MPPAT, 2012), según los datos de consumo del Instituto Nacional de Estadística (INE, 2013).

La región de los llanos occidentales de Venezuela, adecuada para la producción del girasol, cuenta con una extensión de 3.049.716 ha aptas para su cultivo; se divide en dos sectores: el primero, de alta adaptabilidad con una extensión de 1.945.145 ha, y otro sector, de moderada adaptabilidad, con una extensión de 1.103.561 ha (Ávila, 2009).

La producción de este rubro en el mundo, está basada en la siembra de cultivares híbridos. En el país no existe producción de híbridos nacionales, ni de ningún otro tipo de cultivar, sino, que se cultivan híbridos importados predominantemente de Argentina, materiales que deben ser sometidos a los ensayos de validación agronómica de cultivares (EVAC), dirigidos principalmente al cultivar que pretenda servir de proveedor de semilla para los procesos productivos venezolanos.

Por tal motivo, es imperativo realizar las pruebas regionales de rigor (Soto, 2005) con el fin de determinar los materiales con mayor potencial de

rendimiento para las condiciones de producción venezolana; lo que permitiría una solución coyuntural y a corto plazo, en cuanto a la falta de suplencia de semilla nacional de girasol. La estrategia a seguir como solución a largo plazo a este problema estructural, requiere necesariamente del inicio de programas de mejoramiento genético orientados hacia la obtención de cultivares nacionales.

Acquaah (2012) señala que el primer paso en un programa de mejoramiento genético es la generación de variabilidad. Como punto de partida, lo idóneo es usar poblaciones segregantes, en las que se expresa toda la variabilidad genética contenida en un cruzamiento particular. Por definición, el material cosechado de un híbrido es una población segregante, es decir, la cosecha de aquenios de un híbrido comercial de girasol, puede utilizarse como fuente de germoplasma con una alta variabilidad genética, constituyendo la población básica a partir de la cual iniciar ciclos de selección en un programa de mejoramiento genético de este cultivo. Sin embargo, es necesario realizar la caracterización de tal variabilidad para incrementar la eficiencia del mismo.

De acuerdo al artículo 5, aparte 3, de la legislación propuesta por la Unión Internacional para la Protección de Obtenciones Vegetales (UPOV, 1978), el uso del germoplasma derivado de un cultivar como fuente de variación para la obtención de otros cultivares, no requiere la autorización del obtentor.

La caracterización busca determinar la identidad de los individuos de la manera más confiable posible, para posteriormente (entre otros objetivos) hacer análisis de variabilidad genética (Laurentin, 2011). La caracterización puede basarse tanto en rasgos morfológicos, como en marcadores moleculares. La morfológica se basa en caracteres de alta heredabilidad, es decir, características cuya expresión es poco influenciada por el ambiente (Hintum, 1995).

Los caracteres a evaluar son recopilados en los llamados descriptores (Abadie y Berretta, 2010). Aunque, para superar completamente la desventaja que para la caracterización morfológica representa la influencia ambiental, se utiliza la caracterización molecular, especialmente la de ADN, que es la identificación de una serie

de segmentos de ADN de distinta longitud que representan la identidad de un individuo. Ambas caracterizaciones no son excluyentes, puesto que muestran facetas diferentes de la diversidad (Abadie y Berretta, 2010).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar morfológica y molecularmente las poblaciones segregantes provenientes de tres híbridos comerciales de girasol, para determinar su potencial como fuente de germoplasma para el inicio de programas de mejoramiento genético orientados hacia la obtención de cultivares adaptados a las condiciones de producción de girasol en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se escogieron al azar tres de los nueve híbridos que estuvieron disponibles comercialmente en el año 2011. Aquenios de los híbridos comerciales de girasol: Contiflor 17, Aguará 6 y Ramson 3, que fueron cosechados directamente de siembras comerciales para obtener semilla de tres poblaciones segregantes.

### Caracterización morfológica

El estudio se realizó en la Estación Experimental Miguel Luna Lugo, en la localidad de Tarabana, municipio Palavecino del estado Lara, Decanato de Agronomía de la Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado (UCLA), latitud norte 10°01'25" y longitud oeste 69°16'44", con altitud de 510 m.s.n.m., entre los meses mayo y agosto del año 2012. Según el esquema de clasificación climática de Holdridge, el clima del lugar corresponde a un bosque seco tropical con una provincia de humedad subhúmeda.

Se estableció un ensayo de campo bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y tres tratamientos representados por las tres poblaciones segregantes. Cada unidad experimental estuvo constituida por tres hileras de 25 m de longitud y una separación entre ellas de 1,20 m. Adicionalmente se sembró una hilera de cada uno de los híbridos con fines de comparación entre poblaciones segregantes e híbridos de los cuales provenían.

La siembra se realizó manualmente espaciando las semillas a 25 cm. Dentro de cada unidad experimental se tomaron aleatoriamente 10 plantas por cada una de las hileras que la constituyen (30 plantas por unidad experimental) para un total de 120 plantas por cada tratamiento. En cada una de ellas se evaluaron las 18 variables que se indican en el Cuadro 1, de la forma como es indicado en el descriptor de girasol del IBPGR (1985).

### Caracterización molecular

La caracterización molecular se hizo sobre 24 individuos de cada población segregante, cuyas hojas se tomaron 30 días luego de la germinación de plantas escogidas al azar utilizadas en la caracterización morfológica. Adicionalmente, como una forma de estimar la variabilidad relativa de las poblaciones segregantes con respecto a los híbridos, se agregaron dos individuos de cada uno de dichos cultivares, es decir, la caracterización molecular se hizo sobre 78 individuos. La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983), y su purificación se logró con acetato de amonio.

Para verificar la pureza del ADN y hacer una estimación cualitativa de su concentración, se realizó una separación electroforética en geles de 0,8% (p/v) de agarosa ultra pura disuelta en buffer TBE (Trisborato, EDTA 0,5 M, pH 8). La electroforesis se dio a 60 V constantes por 80 min, se tiñó con bromuro de etidio y se observó el resultado a través de iluminación bajo luz ultravioleta.

Con el ADN obtenido, se procedió a generar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando oligonucleótidos de anclaje al azar con una longitud de diez bases, para lograr los RAPD (random amplified polymorphic DNA, o ADN polimórfico amplificado al azar).

Las reacciones de amplificación se hicieron para cada una de las 78 plantas en tubos de PCR, con un volumen final de 18 µl, conteniendo 4 µl de buffer 5X de PCR (Promega, Madison, EE. UU.); 2 µl de MgCl<sub>2</sub> 25 mM; 2 µl de dNTP 2 mM; 1 µl de uno de los oligonucleótidos, 0,3 µl de Taq polimerasa de 5 U µl<sup>-1</sup>; 8,7 µl de agua destilada libre de nucleasa; 2 µl de la suspensión de ADN.

Cuadro 1. Variables tomadas del descriptor del IBPGR (1985) para caracterizar tres poblaciones segregantes de girasol.

Variables	Categorías	Observaciones
<b>Caracteres vegetativos</b>		
1) Forma de la hoja	1) Oblonga. 2) Lanceolada. 3) Triangular. 4) Acorazonada. 5) Redondeada	Tomada en la séptima hoja de abajo hacia arriba
2) Forma de la sección transversal de la hoja	3) Cóncava. 5) Convexa. 7) Plana	Tomada en la séptima hoja de abajo hacia arriba
3) Forma de la base de la hoja	1) Aguda. 3) Deltoide. 5) Acorazonada. 7) Auriculadas.	Tomada en la séptima hoja de abajo hacia arriba
4) Ángulo de las nervaduras laterales de las hojas	3) Agudo. 5) Recto. 7) Obtuso	Tomado en la séptima hoja de abajo hacia arriba
5) Pecíolo	0. Ausente. 1) Extremadamente corto. 3) Corto. 5) Medio. 7) Largo. 9) Extremadamente largo	Tomado en la séptima hoja de abajo hacia arriba
6) Altura de la planta	1) Enano (menos de 40 cm). 2) Extremadamente pequeña (40-80 cm). 3) Pequeña (80-120 cm). 4) Pequeña a mediana (120-160 cm). 5) Media (160-200 cm). 6) Mediana a alta (200-240 cm). 7) Alta (240-280 cm). 8) Alta a extremadamente alta (280-320 cm). 9) Extremadamente alta (más de 320 cm)	Medida en floración plena
7) Ramificación	0) Ausente. 1) Presente	Se determinó observando la planta en toda su extensión
8) Tipo de ramificación	0) Ramificación basal. 1) Ramificación en la punta. 2) Totalmente ramificada con capítulo central. 3) Totalmente ramificada sin capítulo central.	Se determinó en plantas con ramificación presente
9) Ángulo del capítulo	1) 0°; 2) 45°; 3) 90°; 4) 135°; 5) 180°; 6) 225°.	Se determinó al momento de la madurez, respecto a una línea horizontal imaginaria
10) Forma del capítulo	1) Cóncavo. 2) Plano. 3) Convexo. 4) Deforme.	Se determinó al momento de la madurez
11) Longitud de la bráctea en el capítulo	Medida en cm.	Se midió la longitud de 5 brácteas por cada capítulo (planta) seleccionado; se reportó el promedio

..!... continúa

... continuación Cuadro 1.

Variables	Categorías	Observaciones
<b>Caracteres de inflorescencia, fruto y semilla</b>		
12) Pubescencia en las brácteas del capítulo	1) Ausente. 3) Escasa. 5) Intermedia. 7) Densa	Se determinó mediante la apreciación general de la pubescencia en las brácteas
13) Arreglo de las brácteas	1) Convergente. 2) Puentes paralelos. 3) Rendondeado. 4) Ondulado.	Se determinó mediante la apreciación general de las brácteas
14) Número de flores radiales	Número de flores	Se determinó contando el número de flores radiales
15) Color de las flores radiales	1) Marfil. 2) Amarillo pálido. 3) Naranja. 4) Púrpura. 5) Rojo. 6) Multicolor	Se determinó mediante la apreciación general del color de las flores radiales
16) Forma de la semilla	1) Alargada. 2) Ovoide alargada. 3) Ovoide ancha. 4) Redondeada	Se determinó mediante la apreciación general de la forma de un lote de semillas
17) Moteado de la semilla	0) Ausente. 1) Presente	Se determinó mediante la apreciación general del moteado en un lote de semillas
18) Posición de las bandas en la semilla	1) Marginal. 2) Lateral. 3) Tanto marginal como lateral	Se determinó mediante la apreciación general de la posición de las bandas en un lote de semillas

Las reacciones de PCR se dieron en un termociclador modelo Px2 (Thermo, Madison, EE. UU.) programado para un primer paso de desnaturalización a 93 °C por 2 min, seguido de 45 ciclos, cada uno de ellos consistiendo en un paso de desnaturalización a 93 °C por 1 min, un paso de alineación del oligonucleótido a 36 °C por 1 min y un paso de extensión de la molécula formada a 72 °C por 1 min. Finalmente, se programó una extensión a 72 °C por 5 min.

Los productos de amplificación fueron sometidos a electroforesis, (las 78 muestras por cada oligonucleótido utilizado), en geles de 1,5% de agarosa ultra pura disuelta en buffer TBE 1X

durante 80 min a 60 V. Para tal fin, se utilizaron 10 µl de la muestra; adicionalmente, se colocó un marcador de fragmentos de PCR (Promega), para tener un estimado del tamaño de las bandas generadas.

Una vez finalizada la electroforesis, el gel fue teñido en una solución de bromuro de etidio durante 15 min. Posteriormente, el exceso de bromuro de etidio se eliminó mediante lavado con agua destilada por 15 min. Las bandas se observaron bajo luz ultra violeta (UV) y la imagen fue digitalizada mediante un sistema de fotodocumentación VisiDoc-It (UVP, Cambridge, Reino Unido).

## Análisis estadístico

Para los datos morfológicos se calculó el promedio, desviación estándar, valores mínimos y máximos y coeficiente de variación para cada variable cuantitativa. Las variables cualitativas se describieron mediante distribución de frecuencias.

Se probaron las hipótesis de promedios iguales para todos los tratamientos (las tres poblaciones segregantes). Para las variables evaluadas, se realizó el análisis de varianza, previa comprobación de los supuestos estadísticos; y comparándose además los promedios de los tratamientos mediante la prueba de Tukey. Para aquellas variables en las que no se cumplieron los supuestos del análisis de varianza, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis. Todos estos análisis se hicieron con el programa estadístico Statistix for Windows versión 8.0.

Por último, con la finalidad de visualizar las similitudes de los genotipos evaluados y de determinar las características más discriminantes, se efectuó un análisis de componentes principales. Para esto se construyó una matriz con los valores de cada variable dentro de cada planta evaluada, la cual se estandarizó dentro de cada variable, mediante la resta del valor promedio de ésta y su división entre la desviación estándar.

Sobre esta matriz se determinaron las correlaciones existentes entre variables, obteniéndose una nueva variable. En esta última se calcularon los autovalores y autovectores, lo que permitió una proyección ortogonal de los autovectores en un espacio bidimensional. Este análisis se logró con el programa estadístico NTSYS v. 1,72.

En relación a la caracterización molecular, a partir de los datos obtenidos, se elaboró una matriz binaria con presencia (1) o ausencia (0) de una banda para cada individuo. Se realizó el análisis de ordenación de coordenadas principales, para lo cual se obtuvo la correlación entre las bandas. Posteriormente, la matriz de similitud fue doblemente centrada, obteniendo los autovalores y autovectores, los que finalmente se proyectaron en un espacio bidimensional.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización morfológica

La evaluación de caracteres morfológicos fue uniforme, encontrándose todas las plantas evaluadas de cada híbrido en solo 1 categoría para cada variable. Los híbridos difirieron en el pecíolo, altura de planta, longitud y pubescencia de las brácteas en el capítulo y todas las características relacionadas con la semilla, es decir, se pudieron diferenciar los tres híbridos con base en los atributos morfológicos, lo cual pudo lograrse tomando una planta de cada híbrido debido a la uniformidad genética de cada uno.

En las poblaciones segregantes, de todos los caracteres morfológicos evaluados, solo el color de flores radiales no presentó variación, siendo amarillo para las 120 plantas de cada población. En el Cuadro 2 se reporta la distribución de frecuencias de las 11 variables cualitativas nominales, observándose plantas con todas las categorías que definen los 10 caracteres morfológicos que identificó la variación, a excepción del arreglo de las brácteas del capítulo, en la cual no hubo plantas en la categoría de arreglo redondeado. Estos resultados permiten señalar que efectivamente se está expresando una amplia variación genética en las poblaciones segregantes.

La uniformidad genética que originalmente se indica en los híbridos, se perdió completamente al observar los resultados en las poblaciones segregantes, pues no hubo forma de distinguir, con base en los caracteres morfológicos, en las tres poblaciones evaluadas. Kholghi *et al.* (2010) reportaron una amplia variación morfológica en poblaciones mejoradas de girasol.

La prueba de Kruskal y Wallis resultó en ausencia de diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre poblaciones para los 11 caracteres cualitativos nominales. De estos caracteres, los relacionados con la ramificación son los más evidentes en cuanto a la aparición de la variabilidad que estos pueden tener, ya que el girasol cultivado nunca es ramificado. Ávila (2009) indica que la ramificación del tallo constituye un carácter negativo en los cultivares de girasol.

Cuadro 2. Distribución de frecuencias de variables cualitativas nominales evaluadas sobre tres poblaciones segregantes provenientes de tres híbridos comerciales de girasol.

Categorías	Población segregante del híbrido			
	Aguará 6	Contiflor 17	Ramson 3	
	1	0	0	1
	2	6	6	7
<b>Forma de la hoja</b>	3	10	11	10
	4	21	23	22
	5	3	0	0
	3	25	23	17
<b>Forma de la sección transversal de la hoja</b>	5	0	3	5
	7	15	14	18
	1	9	11	8
<b>Forma de la base de la hoja</b>	3	5	4	6
	5	15	21	21
	7	11	4	5
<b>Ramificación</b>	0	22	22	19
	1	18	18	21
	0	20	22	18
<b>Tipo de ramificación</b>	1	1	1	1
	2	3	6	5
	3	16	13	16
	1	10	9	15
<b>Forma del capítulo</b>	2	17	15	15
	3	8	12	7
	4	5	4	3
	1	5	8	7
<b>Arreglo de brácteas</b>	2	1	2	1
	3	0	0	0
	4	24	30	32
	1	0	0	0
	2	0	0	0
<b>Color de flores radiales</b>	3	40	40	40
	4	0	0	0
	5	0	0	0
	6	0	0	0
	1	3	0	6
<b>Forma de la semilla</b>	2	15	16	8
	3	20	16	15
	4	2	8	11
<b>Moteado de la semilla</b>	0	15	8	9
	1	25	32	31
	1	10	0	6
<b>Posición de las bandas de la semilla</b>	2	20	29	27
	3	10	11	7

Cantamutto *et al.* (2010) señalan que el girasol híbrido incluye líneas parentales que poseen ramificación, lo cual no se expresa en la primera generación del cultivo de la semilla híbrida, ya que el genotipo de la madre no posee ramificación. Sin embargo, en generaciones posteriores aparecen individuos ramificados.

En las poblaciones segregantes evaluadas se expresó la variabilidad en el atributo morfológico de la ramificación, que aparecieron plantas ramificadas desde la base, lo cual según Cantamutto *et al.* (2010) es propio de las especies silvestres emparentadas con el girasol.

El Cuadro 3 muestra la distribución de frecuencias de los cuatro caracteres cualitativos ordinales evaluados. En estas variables también se observa la aparición de plantas en la mayoría de categorías

que definen estos caracteres, diferenciándose de los híbridos que les dieron origen los cuales estuvieron, cada uno, ubicados en solo una categoría de cada variable. De igual forma que con los caracteres nominales, en los ordinales se observó una amplia variabilidad entre las plantas evaluadas, siendo similar entre poblaciones segregantes, a tal punto de ser indistinguibles mediante la prueba de Kruskal y Wallis, la cual resultó con diferencias no significativas ( $P > 0,05$ ) para todos los caracteres.

El Cuadro 4 señala la estadística descriptiva de las variables cuantitativas evaluadas. En promedio sobre las tres poblaciones segregantes, los coeficientes de variación para altura de la planta, longitud de brácteas y número de flores radiales fue de 28, 20 y 24%, respectivamente; estos caracteres poligénicos expresan una amplia variabilidad en las poblaciones mencionadas.

Cuadro 3. Distribución de frecuencias de variables cualitativas ordinales evaluadas sobre tres poblaciones segregantes provenientes de tres híbridos comerciales de girasol.

Categorías	Población segregante del híbrido			
	Aguará 6	Contiflor 17	Ramson 3	
<b>Ángulo de nervadura lateral de hojas</b>	3	15	17	16
	5	4	5	8
	7	21	18	16
	0	0	0	0
	1	1	4	3
<b>Pecíolo</b>	3	0	0	0
	5	12	16	10
	7	0	0	0
	9	27	20	27
	1	0	0	0
<b>Ángulo del capítulo</b>	2	5	7	3
	3	12	15	21
	4	16	11	15
	5	7	7	1
	6	0	0	0
<b>Pubescencia de brácteas en el capítulo</b>	1	0	0	0
	3	10	5	9
	5	15	23	19
	7	15	12	12

Cuadro 4. Estadística descriptiva para variables cuantitativas evaluadas sobre tres poblaciones segregantes provenientes de tres híbridos comerciales de girasol.

		Población segregante del híbrido		
		Aguara 6	Contiflor 17	Ramson 3
Altura de la planta	Media	98,44	100,57	101,13
	Coefficiente de variación	24,29	28,84	31,22
	Valor mínimo	50,00	48,80	47,30
	Valor máximo	137,70	189,20	160,70
Longitud de las brácteas	Media	3,63	3,84	3,55
	Coefficiente de variación	17,85	22,56	19,34
	Valor mínimo	2,10	2,76	2,62
	Valor máximo	5,20	7,22	5,40
Número de flores radiales	Media	37,51	36,35	38,28
	Coefficiente de variación	22,25	23,83	25,99
	Valor mínimo	21,00	17,00	20,00
	Valor máximo	56,00	53,00	58,00

Los amplios coeficientes de variación dentro de las poblaciones son indicativos de la inexistencia de alguna identidad genética particular, y por el contrario, revelan la amplia variabilidad genética existente, lo que es mayor dentro de los mencionados grupos, al ser comparada con la variabilidad entre poblaciones.

Esto trae como consecuencia la inexistencia de diferencias estadísticas significativas ( $P > 0,05$ ) entre poblaciones según la prueba de Tukey. La variabilidad fenotípica que se está dando en estas características poligénicas, podría ser indicio de variabilidad genética en otras tantas características determinadas por varios genes.

La Figura 1 muestra la totalidad de las plantas evaluadas en un espacio bidimensional obtenido mediante análisis de componentes principales, que permite explicar el 33% de la variación observada entre plantas, destacando que éstas no se agrupan según el híbrido del cual provengan. Se observa que individuos de una población segregante están al lado de individuos

de otra, siendo la cercanía entre puntos lo que indica la similitud entre individuos.

Por ejemplo, individuos de la población segregante proveniente de Aguará 6, se parecen más a individuos, tanto de Ramson 3 como de Contiflor 17, que a plantas de la misma población segregante proveniente de Aguará 6. Es decir, las poblaciones provenientes de los tres híbridos de girasol evaluados, no tienen una identidad genética particular que permita agruparlos y diferenciarlos de los otros híbridos.

El Cuadro 5 permite visualizar que dentro y entre poblaciones segregantes, las variables que mejor explican la variación determinada fueron: altura de la planta, longitud de las brácteas y número de flores radiales, respecto al primer eje. En el segundo eje, la variación puede ser explicada mayormente por la ramificación y el tipo de ramificación. Estos resultados indican que la mayor variabilidad no solo se dio en algunas de las características que permitieron diferenciar a los híbridos (altura de planta y longitud de brácteas), sino que a éstas se sumaron otras variables.

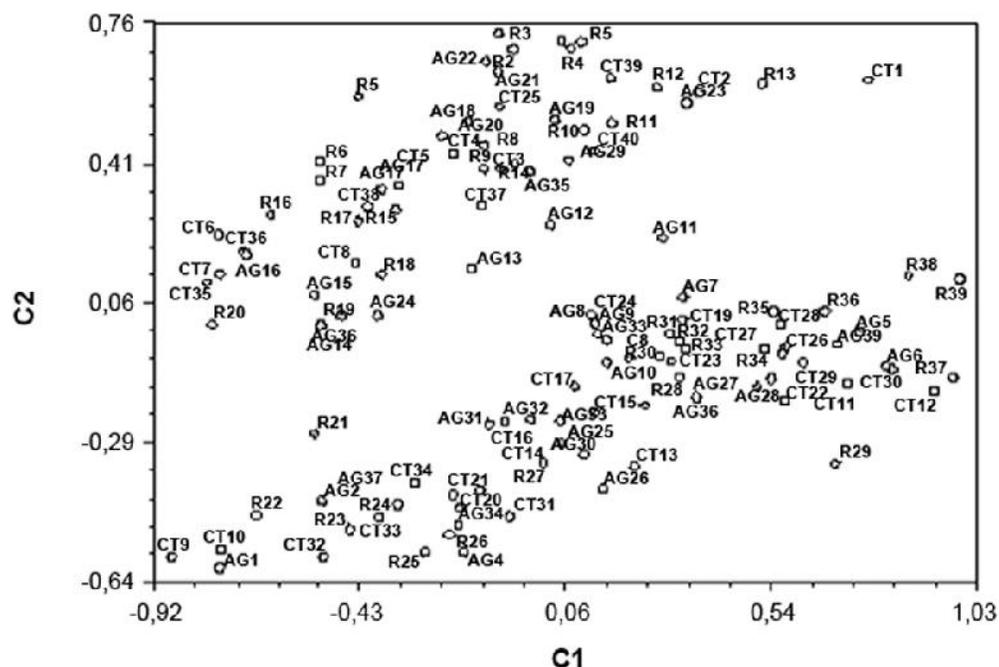


Figura 1. Gráfico bidimensional del agrupamiento de 120 plantas provenientes de 3 híbridos comerciales de girasol, basado en la evaluación de 18 caracteres morfológicos. Cada planta identificada por: AG= Aguará 6; CT= Contiflor 17; R= Ramson 3, seguida de un número.

Cuadro 5. Autovectores del análisis de componentes principales.

Variables	Eje1	Eje2	Eje3	Eje4
Forma de sección transversal de hoja	0,02	0,15	0,19	0,00
Forma de la hoja	0,53	0,26	0,34	-0,21
Forma de base de hoja	0,50	0,24	0,45	-0,01
Ángulo de nervaduras laterales	0,08	0,06	0,31	-0,49
Pecíolo	0,54	0,48	-0,16	0,14
Altura de planta	0,80	0,28	-0,07	0,10
Ángulo del capítulo	0,58	-0,20	-0,16	-0,35
Forma del capítulo	-0,34	0,06	-0,07	-0,44
Ramificación	-0,37	0,85	0,07	-0,06
Tipo de ramificación	-0,31	0,87	0,07	-0,07
Longitud de brácteas	0,81	-0,08	-0,13	-0,10
Pubescencia de brácteas	-0,12	0,06	0,01	0,57
Forma de brácteas	-0,18	0,03	-0,27	-0,51
Número de flores radiales	0,75	0,06	-0,03	0,12
Forma de la semilla	0,07	-0,02	-0,22	-0,37
Moteado de la semilla	-0,00	0,19	-0,68	-0,05
Posición de bandas en semilla	0,07	0,22	-0,81	0,12

La amplia variabilidad manifestada en este trabajo, aún cuando podría ser considerada indeseable, en lo que concierne a calidad de semilla para procesos productivos, es de gran importancia en lo referente a mejoramiento genético como fuente de germoplasma para iniciar procesos de selección.

El inicio de un programa de mejoramiento genético solo es posible cuando existe variación genotípica en la población para las características de interés, puesto que la variación genética constituye la materia prima del mejoramiento genético (Laurentin, 2011). En trabajos anteriores se ha descrito el valor que pueden tener las generaciones segregantes de híbridos comerciales como fuente de germoplasma, especialmente para obtener líneas androestériles (Carvalho y Toledo, 2008).

### Caracterización molecular

Se obtuvo un total de 22 bandas RAPD amplificadas mediante los iniciadores OPA-19, OPK-05, OPM-04, OPB-07 (sin bandas al utilizar el iniciador OPM-20). Los iniciadores OPM-04 y OPA-19 lograron la amplificación de 6 bandas, mientras que OPK-05 y OPB-07 de 5 bandas. Todas las bandas fueron polimórficas y estuvieron en un rango de tamaño entre 200 y 1250 pares de bases. No se observaron bandas únicas (Cuadro 6).

El promedio de bandas obtenidas por iniciador fue de 5,5. El oligonucleótido OPM-20, que no logró amplificar ADN en el presente trabajo, fue utilizado

exitosamente en otra caracterización molecular en girasol (Fernández *et al.*, 2010). La similitud promedio dentro de las poblaciones segregantes provenientes de Aguará 6, Contiflor 17 y Ramson 3, fue de 0,31; 0,28 y 0,19, respectivamente, mientras que en promedio entre los individuos de cada uno de los híbridos fue 0,93, siendo indicio de la amplia variabilidad genética que expresan las poblaciones segregantes con respecto a los híbridos que les dieron origen.

El análisis de coordenadas principales representado en un espacio bidimensional y basado en los RAPD obtenidos (Figura 2), explicó el 45% de la variabilidad genética total. Según los autovectores (no reportados), las bandas generadas por el oligonucleótido OPM-04, resultaron tener el menor poder discriminante, mientras que 12 bandas generadas por OPB-07, OPA-19 y OPK-05 (cuatro cada uno) contribuyen en aproximadamente la misma magnitud a discriminar las plantas evaluadas.

De forma análoga a lo que ocurrió al ser reportada la caracterización morfológica, la caracterización mediante RAPD no permite discriminar entre poblaciones segregantes, la variabilidad identificada dentro de poblaciones es mucho mayor que la variabilidad entre poblaciones, impidiendo que plantas de una misma población segregante, se agrupen de forma similar, diferenciándose de las plantas de otras poblaciones segregantes.

Cuadro 6. Número de bandas totales, número de bandas polimórficas y tamaño de bandas para cada uno de los iniciadores utilizados.

Oligonucleótidos		Número de bandas	Número de bandas polimórficas	Tamaño de bandas			
				Mayor a 1000 pb	Entre 750 y 1000 pb	Entre 500 y 750 pb	Entre 200 y 500 pb
Nombre	Secuencia						
OPA-19	CAAACGTCGG	6	6	1	1	3	1
OPK-05	TCTGTCGAGG	5	5	1	1	2	1
OPM-04	GGCGGTTGTC	6	6	2	2	2	0
OPB-07	GGTGACGCAG	5	5	0	2	1	2

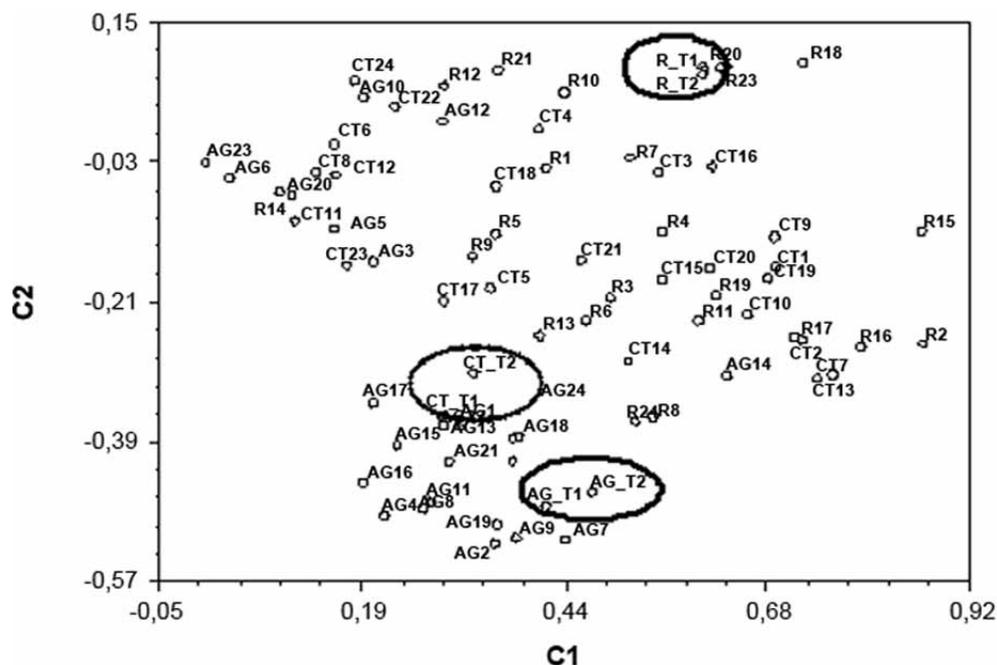


Figura 2. Gráfico bidimensional del agrupamiento de 78 plantas de poblaciones segregantes provenientes de 3 híbridos comerciales de girasol basado en 22 bandas RAPD por: AG= Aguará 6; CT= Contiflor 17; R= Ramson 3, seguida de un número. Dentro de los óvalos los dos testigos de cada híbrido comercial.

## CONCLUSIONES

La caracterización morfológica y molecular coinciden en mostrar una amplia variabilidad genética dentro de las poblaciones segregantes generadas por cada uno de tres híbridos comerciales de girasol.

La condición indispensable para el inicio de programas de mejoramiento genético, que es la obtención de una población con amplia variabilidad genética, está cubierta en la población segregante de híbridos comerciales. Por tal razón, una estrategia válida para programas de mejoramiento genético en el cultivo del girasol, es la utilización de la semilla cosechada de híbridos comerciales como fuente de germoplasma, bien sea, para la obtención de padres cuyo cruzamiento generaría nuevas poblaciones o usándolas directamente como población básica.

Esta estrategia permitiría la obtención a mediano plazo de cultivares venezolanos (variedades de polinización

abierta, o eventualmente nuevos híbridos), adaptados a las condiciones agroecológicas de producción en el país, lo cual sería un aporte importante en la creación de sistemas de producción de semilla nacional de girasol.

## LITERATURA CITADA

- Abadie T. y A. Berretta. 2010. Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. In: PROCISUR (Eds.). Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del cono sur PRO CISUR/IICA. Montevideo, Uruguay. pp. 85- 97.
- Acquaah G. 2012. Principles of plant genetics and breeding. Segunda Edición. Editorial Wiley-Blackwell. 758 p.
- Ávila J. 2009. Manual para el cultivo del girasol. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Portuguesa. Maracay, Venezuela. 53 p.

- Cantamutto M., M. Poverene, A. Presotto, I. Fernández, A. Gutiérrez, S. Ureta y M. Casquero. 2010. ¿Está domesticado el girasol? *Ciencia Hoy* 20:20-29
- Carvalho C. and J. Toledo. 2008. Extracting female inbred lines from commercial sunflower hybrids. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 43:1.159-1.162
- Dellaporta, S., J. Wood and J. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: versión II. *Plant Mol Biol. Rep.* 1:19-21.
- FEDEAGRO. 2014. Estadísticas agropecuarias. Disponible en línea: [www.fedeagro.org](http://www.fedeagro.org). [Feb. 11, 2014].
- Fernández H., E. Soto, E. Salazar y M. Betancourt. 2010. Análisis RAPD entre y dentro de poblaciones derivadas de girasol silvestre x cultivado. *Agronomía Trop.* 60(3):263-269.
- Hintum T. 1995. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants. **In:** Hodgkin, T., Brown, A., Hintum, T, Morales, E. (Eds.). *Core collections of plant genetic resources* pp. 23-24. John Wiley and Sons. New York, EE. UU.
- IBPGR. 1985. Descriptors for cultivated and wild sunflower. *AGPG./85/54*, Roma.
- Instituto Nacional de Estadística (INE). 2013. Estadísticas sociales. Consumo de alimentos. Disponible en línea: <http://www.ine.gob.ve>. [May. 17, 2013].
- Kholghi M., I. Bernousi, R. Darvishzadeh, A. Pirzad and H. Hatami. 2010. Collection, evaluation and classification of Iranian confectionary sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations using multivariate statistical techniques. *African Journal of Biotechnology* 10:5.444-5.451.
- Laurentin H. 2011. *Genética Agrícola*. Editorial Académica Española. Saarbrücken, Alemania. 233 p.
- Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT). 2012. Memoria y cuenta del Ministerio del Poder Popular para Agricultura y Tierras, 2010. Caracas, Venezuela.
- Soto E. 2005. El cultivo del girasol en Venezuela. *Revista Digital CENIAP Hoy* 9.
- Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). 1978. *Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales*. Ginebra, Suiza. Disponible en línea: <http://www.upov.int/export/sites/upov/upovlex/es/conventions/1978/act1978.pdf>. [Jun. 03, 2014].



## Caracterización ecofisiológica de cuatro clones de yuca del banco de germoplasma del INIA-CENIAP

### Ecophysiological characterization of four clones of cassava from genebank at INIA-CENIAP

Rommel León Pacheco\*, Mercedes Pérez Macias, María Gutiérrez Trocel, Adrián Rodríguez Izquierdo, Francia Fuenmayor Campos y Carlos Marín Rodríguez

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Código postal 4653. Maracay 2101, estado Aragua. Venezuela.  
Correos electrónicos: leonr745@hotmail.com\*, rleon@inia.gob.ve

#### RESUMEN

En áreas donde la sequía es prolongada y es la mayor limitante para el éxito de los cultivos alimenticios, la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es una buena alternativa. Sin embargo, este cultivo a pesar de su rusticidad es afectado por ambientes extremos. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el potencial fisiológico y agronómico de cuatro clones de yuca promisorios en el Campo Experimental del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Maracay, estado Aragua, Venezuela. Las variedades 'Bolívar 32', 'Concha rosada', 'CM 6740-7' y 'Per 183', fueron evaluadas bajo un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial 4x9, correspondiente a cuatro clones de yuca y 9 meses de evaluación respectivamente, con tres repeticiones. Los resultados indicaron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre variedades, para las variables número de hojas/planta (NHP), área foliar (AF), altura de planta (AP) y longitud del pecíolo (LP). Además, hubo diferencias ( $P \leq 0,05$ ) entre la interacción clon y meses para las variables AF ( $\text{cm}^2$ ), LP (cm), fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), conductancia estomática ( $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y transpiración ( $\text{mmol HO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). De esta forma, al realizar el análisis multivariado por componentes principales, se observó divergencia entre los cuatro clones evaluados. Por último, las variables conductancia estomática, transpiración, fotosíntesis y NHP no mostraron diferencias significativas por el reducido número de clones evaluados. La tasa de fotosíntesis obtenida para este cultivo presume un comportamiento de metabolismo de una C3-C4.

**Palabras claves:** *Manihot esculenta* Crantz, descriptores fisiológicos, descriptores agronómicos.

#### ABSTRACT

Where prolonged drought is a major constraint for the success of food crops, cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an alternative under these conditions. However, despite its hardiness this crop is affected by the environmental extremes. Therefore, the aim of this study was to evaluate the physiological and agronomic potential of four promising clones of cassava in the Experimental Field of the National Agricultural Research Center (INIA-CENIAP), Maracay, Venezuela. The cultivars 'Bolívar 32', 'Concha rosada', 'CM 6740-7' y 'Per 183' were evaluated using a completely randomized design with factorial arrangement (4\*9), corresponding to four cultivars of cassava and nine months evaluation, respectively, with three replications. The results indicated cultivars differences ( $P \leq 0.05$ ) for number of leaves/plant, leaf area, plant height and petiole length. Leaf area ( $\text{cm}^2$ ), petiole length (cm), photosynthesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), stomatal conductance ( $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) and transpiration ( $\text{mmol HO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) showed a significant effect ( $P \leq 0.05$ ) between month and clone interaction. With the principal component multivariate analysis, the four clones showed divergence among them. Finally, stomatal conductance, transpiration, photosynthesis and leaf number did not showed significant differences due to the small number of clones evaluated. Photosynthetic rate obtained for this crop presumed a C3-C4 metabolism.

**Key words:** *Manihot esculenta* Crantz, physiological descriptors, agronomic descriptors.

## INTRODUCCIÓN

La yuca es uno de los cultivos mejor adaptados a amplias condiciones ambientales tropicales y con alta resistencia a la sequía. Es producida por agricultores de escasos recursos económicos, en suelos pobres e inapropiados para otras plantas con fines alimenticios y considerada una de las principales fuentes de carbohidratos para la subsistencia; lo que le da un alto valor social (Montaldo, 1996).

La producción mundial total de yuca alcanzó los 272 millones de toneladas para el 2006. Actualmente, los primeros cuatro países productores (Nigeria, Indonesia, Tailandia y República Democrática del Congo) producen 98.467.800 t (FAO, 2012). En Venezuela, es el cultivo con mayor superficie cosechada en el renglón de raíces y tubérculos, con 56.635 ha, con un volumen de producción de 732.123 t y rendimiento de 12.927 t ha<sup>-1</sup> (FEDEAGRO, 2013).

Sin embargo, la planta frente al déficit hídrico en distintas fases fenológicas, disminuye su rendimiento y la calidad de hojas y raíces (Mejías, 2002; López y Ramírez, 2006; Ramos, 2007; Tofiño *et al.*, 2008; Portuondo y Ortega, 2012).

Este cultivo ajusta su eficiencia fotosintética a la máxima intensidad de luz, a la temperatura, al estado fisiológico, a factores genéticos, a la apertura y cierre de estomas; los cuales, a su vez están determinados por el estado hídrico de la planta y por la humedad relativa del aire. La yuca tiene una capacidad fotosintética relativamente alta, con tasas de 35-45  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Mejías, 2002; Calatayud *et al.*, 2000). Esto debido a que la especie presenta características fisiológicas C3-C4, acumulando PEP-carboxilasa o Rubisco, dependiendo de las condiciones ambientales que enfrenta el cultivo (El-Sharkawy, 2012).

En este sentido, El-Sharkawy *et al.* (1992) y Mejías *et al.* (1997) hacen referencia de la correlación significativa entre variables fisiológicas y de productividad. Asimismo, El-Sharkawy *et al.* (1990) mencionan la variación que se produce en la fotosíntesis bajo diferentes condiciones ambientales.

Por otra parte, Fuenmayor *et al.* (2005) señalan la necesidad de recolectar clones de yuca y formar

colecciones o bancos de germoplasma, para evaluarlos y caracterizarlos agronómicamente, mediante el uso de descriptores definidos que permitan la sistematización de los caracteres estudiados en todos los clones; y su adaptación a las diferentes condiciones agroecológicas.

En la actualidad en el banco de germoplasma del CENIAP se mantienen 191 clones en campo, 34 se encuentran en el banco de germoplasma *in vitro*, los cuales están siendo caracterizados a través de descriptores bioquímicos, moleculares y morfológicos (Fuenmayor *et al.*, 2005).

Al mismo tiempo, en el banco de germoplasma de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, cuenta con 293 entradas de yuca, parcialmente caracterizadas morfológica, agronómica y molecularmente (Polanco, 1998; León *et al.*, 2013; Marín *et al.*, 2008).

En vista de lo expuesto anteriormente, es necesario mejorar la producción en cantidad y calidad del cultivo, de manera eficiente y sustentable, a través del desarrollo de modelos y el estudio de variables ecofisiológicas, que permitan explicar y predecir el impacto de variaciones climáticas y edáficas en la plantación.

De acuerdo con una estrategia sugerida a corto plazo para la selección eficiente de genotipos tolerantes a la sequía, implica, también la caracterización agronómica de caracteres de interés, la utilización de análisis bioquímicos y fisiológicos que disminuyan el efecto de la interacción genotipo-ambiente en la selección de parentales (Tofiño *et al.*, 2008).

Actualmente, en el país son pocos los trabajos relacionados con la ecofisiología en este cultivo, por lo que surge la necesidad de esta investigación, cuyo objetivo es estudiar el potencial fisiológico y agronómico de los clones de yuca en las distintas fases fenológicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del estudio

El estudio se realizó en el Campo Experimental del INIA-Ceniap, Maracay, estado Aragua, en clima seco tropical, latitud norte 10°15', longitud oeste

67°36', altura 450 m.s.n.m. y una precipitación promedio anual de 1.179,2 mm.

### Material vegetal

Se estudiaron cuatro clones de yuca: 'Bolívar 32', 'Concha rosada', 'CM6740-7' y 'Per 183'; previamente seleccionados en función de su comportamiento potencial.

### Descripción del experimento

Se estableció un ensayo experimental mediante la siembra de estacas de los clones de yuca en un suelo franco limoso. La unidad experimental (UE) estuvo conformada por 20 hilos de 10 m de longitud con un área de 200 m<sup>2</sup>/UE. Se sembraron 220 plantas/UE con un hilo de bordura de 10 m por UE. La fertilización se realizó con la aplicación de 50 g planta<sup>-1</sup> de fórmula completa al momento de la siembra y reabono con 50 g planta<sup>-1</sup> de urea a los 3 meses después de la siembra. El riego se realizó semanalmente durante los primeros

meses hasta extenderse cada 15 días de forma complementaria. El control de malezas, plagas y enfermedades fue uniforme en toda la plantación.

### Diseño del experimento

En condiciones de campo, se estableció un ensayo experimental con cuatro clones de yuca, sembrados a 1 metro entre plantas y 11 plantas por hilo, con un diseño completamente aleatorizado, bajo un arreglo de tratamientos factorial en el tiempo 4x9, correspondiente a cuatro clones de yuca y 9 meses de evaluación, respectivamente.

### Caracterización fisiológica y agronómica

Las variables fisiológicas y agronómicas fueron medidas mensualmente a partir del cuarto mes de sembrado el cultivo hasta el mes doce. El Cuadro 1 muestra la forma, época de medición y número de repeticiones que se realizaron para medir las variables previstas en este estudio.

Cuadro 1. Descriptores utilizados para la caracterización eco-fisiológica de cuatro clones de yuca de la colección del germoplasma del INIA-CENIAP.

Descriptor	Edad del cultivo	Forma de la medición	Medición/clon
Transpiración (mmol H <sub>2</sub> O/m <sup>2</sup> /s)	04-12 mes	Equipo Photosynthesis System CI-340.	3 hojas/planta
Conductancia estomática (mmol CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /s)	04-12 mes	Equipo Photosynthesis System CI-340.	3 hojas/planta
Fotosíntesis (µmol CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /s)	04-12 mes	Equipo Photosynthesis System CI-340.	3 hojas/planta
N° de hoja/planta	04-12 mes	Se midió el número total de hojas de la planta.	3 plantas
Altura de la planta (cm)	04-12 mes	De parte basal a parte apical del tallo.	3 plantas
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	04-12 mes	Se evaluó en las hojas del tercio medio de la planta con el programa Imagej®.	3 hojas/planta
Pecíolo (cm)	04-12 mes	Se evaluó en las hojas del tercio medio de la planta desde inserción a parte distal .	3 hojas/planta
Peso fresco total de raíz (kg)	mes 12	Se pesó total de raíces por planta.	3 plantas
Número de raíces totales	mes 12	Número total de raíces/planta	3 plantas
Número de raíces comerciales	mes 12	N° raíces comerciales (mayor 20 cm. de longitud y mayor 4 cm de diámetro).	3 plantas
Peso de raíces comerciales (kg)	mes 12	Peso de raíces comerciales (mayor 20 cm. de longitud y mayor 4 cm de diámetro).	3 plantas
Materia seca (%)	04-12 mes	Se midió con el peso seco y fresco de la hoja.	3 plantas
Biomasa de hoja	04-12 mes	Se midió con el peso seco y fresco de la hoja.	3 plantas
Peso aéreo (kg)	mes 12	Se pesó toda la parte aérea de la planta	3 plantas

## Análisis de los resultados

Previo al cumplimiento de los supuestos, se estudiaron el conjunto de datos con un análisis de varianza, prueba de media de Tukey, con un nivel de significancia menor o igual al 5% y análisis multivariado por componentes principales con el uso del programa Infostat versión estudiantil.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el desarrollo del trabajo se presentan las pruebas de medias solamente de las variables que mostraron diferencias significativas en el análisis de la varianza con un nivel de significancia menor o igual al 5%.

### Caracterización ecofisiológica

#### Comportamiento fisiológico

Las variables transpiración (E) y conductancia estomática (C), no mostraron diferencias significativas entre los clones estudiados ( $P \leq 0,05$ ) durante todo el ciclo del cultivo; con valores que oscilaron entre 1,27-1,61 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> y 94,63-138,4 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente. Igualmente, ocurrió con las interacciones clon por mes para ambas variables, donde solamente hubo diferencias para el mes 4 (Figura 1). Caso contrario ocurrió en el estudio de Alves (2002) en EMBRAPA, Brasil, donde se observó diferencias en transpiración y conductancia estomática bajo condiciones de estrés en distintas fases fenológicas del cultivo.

De igual forma, Mejías (2002), Salisbury y Ross (1992) y Taiz y Zeiger (2006), mencionan que un mecanismo de defensa de la planta al déficit de agua, es reducir la pérdida de agua por unidad de área; lo cual se logra incrementando la resistencia al flujo de agua en el trayecto entre el suelo y la atmósfera, reduciendo la conductancia estomática, por lo que debería encontrarse diferencias en esta variable en las distintas fases fenológicas.

Por lo demás, en este trabajo no hubo diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) para la variable fotosíntesis en los distintos clones evaluados, con valores que oscilaron entre 11,14-16,63 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Sin embargo, los distintos cultivares de yuca mostraron

un comportamiento diferencial para esta variable en las distintas fases de crecimiento (Cuadro 2); coincidiendo con lo señalado por Mejías (1997) en una investigación realizada en cultivares de yuca sembrada en ambientes contrastantes con valores de fotosíntesis de 7-31 mol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. De igual forma, Calatayud *et al.* (2000) obtuvieron valores para esta característica en plantas jóvenes con estrés y sin estrés de 12,5 y 4 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente y para plantas viejas de 2,6 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> sin estrés y 0,6 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> con estrés.

Esta variable es de suma importancia, ya que la planta ajusta su eficiencia fotosintética a la fluctuación de factores como máxima intensidad lumínica, temperatura, estado fisiológico, factores genéticos y regulación estomática, dependiente del estado hídrico del continuo suelo-planta-atmósfera (Mejías, 2002). El éxito del cultivo de la yuca para soportar el estrés hídrico, es su capacidad para regular rápidamente numerosos procesos metabólicos frente a cambios de condiciones ambientales favorables a desfavorables (Tofiño *et al.*, 2008).

Aunque el número de hojas entre los clones y los meses estudiados, mostró como máximo valor 305 hojas y un mínimo de 181 hojas. En este aspecto, Suárez y Mederos (2011) indican que el número total de hojas producidas por la planta (NHP) y su longevidad son características varietales, profundamente influidas por las condiciones ambientales. No obstante, por el número tan pequeño de clones evaluados, hubo la posibilidad de que los materiales no lograron diferenciarse para esta variable, siendo afectados de igual forma por las condiciones ambientales.

### Comportamiento agronómico

La AP tuvo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para los distintos clones, valores entre 2,17-2,62 m, sobresaliendo el PER 183, como se muestra en el Cuadro 2; pero no mostró diferencias entre las interacciones de los clones con el tiempo. Montaldo (1996) agrupa la escala para las AP en: bajos (menores a 1,5 m), intermedios (1,50 a 2,5 m) y altos (más de 2,5 m); prefiriéndose agronómicamente los de porte intermedio a alto, debido a la facilidad para las labores culturales.

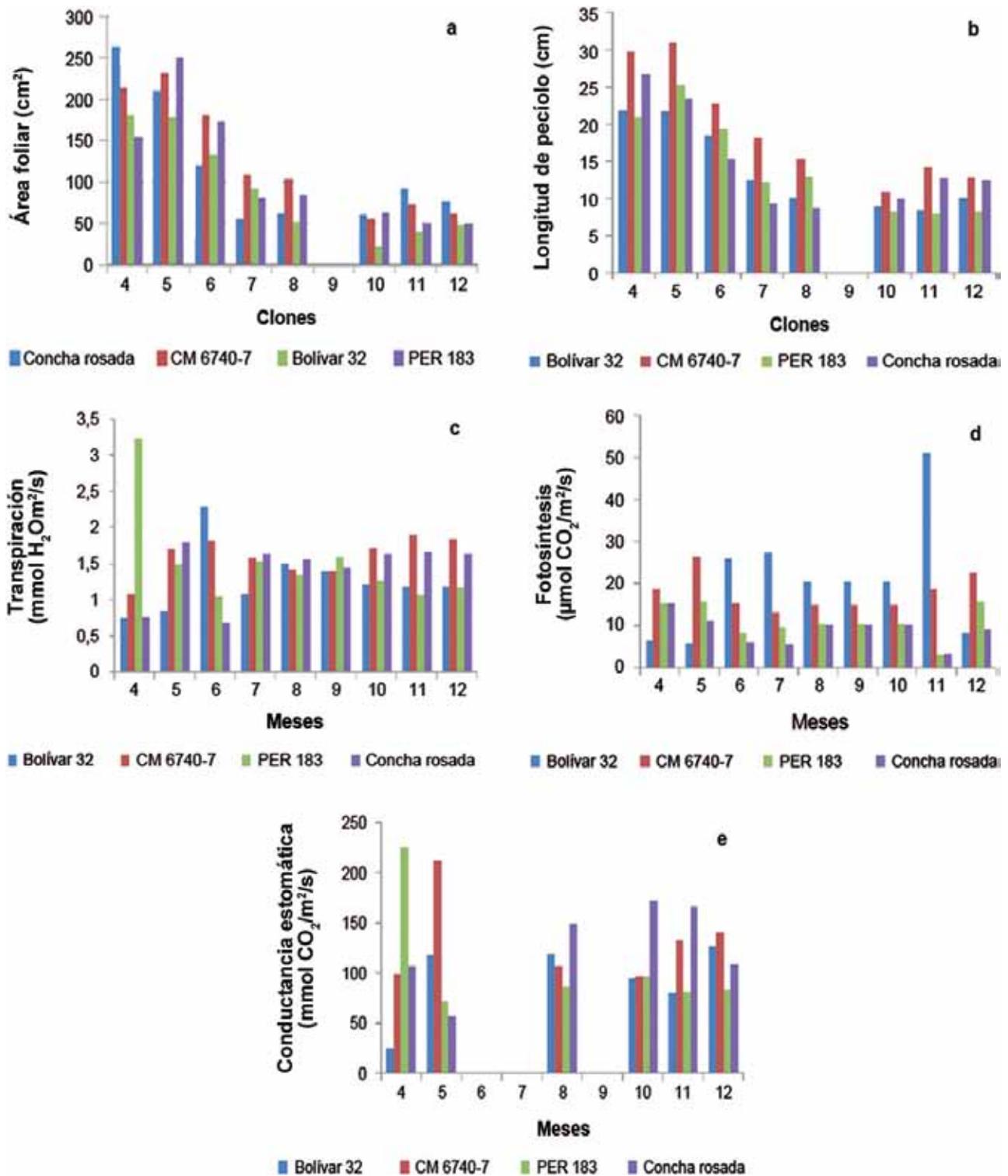


Figura 1. Comportamiento promedio de las variables: a) área foliar, b) longitud del peciolo, c) transpiración, d) fotosíntesis y e) conductancia estomática, en cuatro clones de yuca durante 9 meses de evaluación.

Cuadro 2. Prueba de media (Tuckey) para las variables de longitud del pecíolo (LP); número de hojas/planta (NHP); altura de planta (AP) y área foliar (AF).

	DMS=1,54794	DMS=34,72175	DMS=0,23117	DMS=19,88304
<b>Variabes</b>	<b>Pecíolo (cm)</b>	<b>NHP</b>	<b>AP (m)</b>	<b>AF (cm<sup>2</sup>)</b>
<b>Clon</b>	<b>Medias</b>	<b>Medias</b>	<b>Medias</b>	<b>Medias</b>
CM 6740-7	14,17 A	228,86 B	2,39 AB	73,65 A
Concha rosada	12,67A	181,44 C	2,19 B	92,45 A
Bolívar 32	8,38 B	211,13 BC	2,17 B	49,94 B
PER 183	7,85 B	305,97 A	2,62 A	40,32 B

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Caso contrario reportaron Marín *et al.* (2008) y León *et al.* (2013), en el banco de germoplasma de yuca del INIA-CENIAP con introducciones del CIAT-Colombia y de FAGRO-UCV, respectivamente, observándose portes de bajos a intermedios en ambas colecciones en dos fechas de evaluación.

En lo que respecta a las variables AF y longitud del pecíolo (LP), se observó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para clones, destacándose los clones 12 y concha rosada, para las interacciones clones y meses evaluados (Figura 1). Las pruebas de medias para ambos factores se muestran en el Cuadro 3 y la Figura 1. Alves (2002) indica diferencias significativas en la variable AF y su interacción con el factor condición de déficit hídrico. Por su parte, León *et al.* (2013), reportaron para la variable AF a los 3 meses 209,39 cm y para la LP a los 3 y 6 meses de edad 25,82 y 18,57 cm, respectivamente.

Referente a las variables de rendimiento, el peso de raíz total estuvo en el orden de 2,65 a 4,383 kg planta<sup>-1</sup> y el peso de raíz comercial entre 1,51 a 3,83 kg planta<sup>-1</sup>; mientras que el número de raíces para ambas variables fue de 8 a 10 y 2 a 6, respectivamente.

Esto concuerda con lo reportado por León *et al.* (2013), donde los clones presentaron raíces con pesos totales desde 0,3 hasta 4,66 kg planta<sup>-1</sup> y con valores máximos de raíces comerciales de 3,66 kg planta<sup>-1</sup>; lo que indica que en general, estos materiales mostraron buenos rendimientos,

ya que el promedio nacional se encuentra entre 1-3 kg planta<sup>-1</sup> (FEDEAGRO, 2013). De igual forma, Polanco (1998) encontró valores de raíces totales entre 0-14 y 0-8 raíces comerciales. Sobre este aspecto, Marín *et al.* (2008) obtuvo 47,84% de los clones con raíces comerciales y con valores máximos de 4-5.

Entre los caracteres cuantitativos aéreos más importantes se encuentran: cobertura, AF y peso aéreo; debido a que el follaje de yuca tiene un alto potencial para la producción de proteína con valores nutritivos significativos, lo que permite ser suministrado a los animales en forma fresca o como heno (Preston *et al.*, 2012). Es por ello, que en este trabajo se evaluó la variable peso aéreo, obteniéndose valores promedios de 1,8 hasta 3,6 kg planta<sup>-1</sup>; no mostrando diferencias entre los clones, lo que indica que para estos cultivares el ambiente no logró producir ningún efecto sobre esta variable.

### Análisis multivariado por componentes principales

Pla (1986) menciona que no es válido evaluar solo un componente para explicar la variabilidad de los datos. En vista de ello, se encontró que solo 31,6% sintetiza la variabilidad en el primer componente; y aplicando el criterio de selección de componentes principales de Kaiser (Pla, 1986), se utilizaron los dos primeros componente para un valor de 91,6%.

Cuadro 3. Prueba de media para las variables longitud del pecíolo; número de hojas/planta (NHP); altura de planta (AP) y área foliar (AF).

Variables Clon	Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,54794	Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=34,72175	Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23117	Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=19,88304
	Pecíolo Medias	NHP Medias	AP Medias	AF Medias
Clon 12	14,17 A	228,86 B	2,39 AB	73,65 A
Concha rosada	12,67 A	181,44 C	2,19 B	92,45 A
Bolívar 32	8,38 B	211,13 BC	2,17 B	49,94 B
Clon 2	7,85 B	305,97 A	2,62 A	40,32 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

En la Figura 2 se observa una alta correlación entre las variables, NHP, número de raíces comerciales, AP y peso aéreo; también de la materia seca. Aunque no se encuentre significativamente correlacionada con las variables anteriores, estas caracterizan al PER 183 (Clon 02); mientras que el

número de raíces totales, así como, número y peso de raíces no comerciales, están correlacionadas e identifican a los clones Concha rosada y Bolívar 32. Además, las variables conductancia estomática, LP, biomasa de hoja y AF, están correlacionadas entre sí y explican al CM 6740-7 (Clon 12).

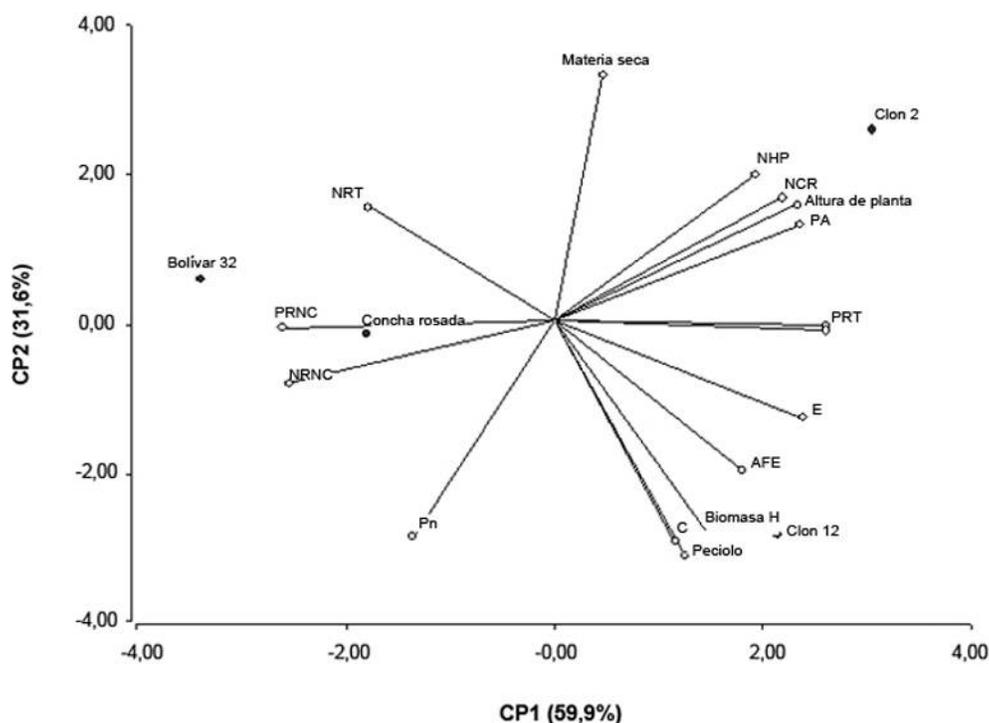


Figura 2. Doble representación de cuatro clones de yuca con las variables evaluadas.

Por último, es importante mencionar que los clones Concha rosada y Bolívar 32, tienen caracteres comunes (Figura 2); pero a su vez estos difieren del Per 183 (Clon 02) y el CM 6740-7 (Clon 12).

### CONCLUSIONES

Los cuatro clones evaluados mostraron el mismo comportamiento para las variables CE, transpiración, fotosíntesis y NHP.

Se presume que este cultivo presente en el comportamiento de una planta con una ruta de asimilación de CO<sub>2</sub> de tipo intermedia C3-C4, por los valores de la tasa de asimilación neta (fotosíntesis).

Los clones mostraron valores para el peso comercial de raíces en el orden de 1,51 a 3,83 kg; lo que comparado con el promedio nacional, confirma la adaptación de los mismos, frente a las diversas condiciones ambientales.

El clon Per 183 difiere de los clones Concha rosada, Bolívar 32 y CM 6740-7, en cuanto a las variables, NHP, número de raíces comerciales, AP y peso aéreo; mientras que el número de raíces totales y número y peso de raíces no comerciales, están correlacionadas e identifican a los clones Concha rosada y Bolívar 32. Igualmente, las variables conductancia estomática, LP, biomasa de hoja y AF están correlacionadas entre sí y explican al CM 6740-7, mostrando una divergencia importante con respecto a los otros tres clones para estas variables.

### LITERATURA CITADA

- Alves A. 2002. Acumulacao de ácido abscísico em Mandioca sob déficit hídrico. EMBRAPA. Boletim de pesquisa e desenvolvimento 22:5-20.
- Calatayud P., E. Llovera, J.F. Bois and T. Lamaze. 2000. Photosynthesis in drought-adapted cassava. *Photosynthetica* 38(1):97-104.
- El-Sharkawy M.A. 2012. Stress-tolerant cassava: The role of integrative ecophysiology-breeding research in crop improvement. *Open Journal of Soil Science*. 2:162-186.
- El-Sharkawy M.A., J. Cock, J. Lynam, D. Hernández and L. Cadavid. 1990. Relationships between biomass, root-yield and single-leaf photosynthesis in field-grown cassava. *25(3):183-201*.
- El-Sharkawy M.A., S. Mejia de Tafur and L. Cadavid. 1992. Potential photosynthesis of cassava as affected by growth conditions. Disponible en línea: <http://openagricola.nal.usda.gov/Record/IND93013773>. [Dic. 05, 2012].
- FAO. 2012. Base de datos. Disponible en línea: HYPERLINK "<http://www.Fao.org/>"www.Fao.org. [Jun. 08, 2012]
- FEDEAGRO. 2013. Base de datos. Disponible en línea: HYPERLINK "<http://www.fedeagro.org/consumo/raices.asp> [Jul. 08, 2013].
- Fuenmayor F., V. Segovia, J.G. Albarrán, A. Rodríguez y W. Cabaña. 2005. Banco de germoplasma de yuca del INIA-CENIAP-Venezuela. *Revista Digital CENIAP HOY* Número 7 2005. Maracay, Aragua, Venezuela. Disponible en línea: [http://www.ceniap.ggov.vve/ceniaphoy/articulos/n7/arti/fuenmayor\\_f/arti/fuenmayor\\_f.htm](http://www.ceniap.ggov.vve/ceniaphoy/articulos/n7/arti/fuenmayor_f/arti/fuenmayor_f.htm). [Ene. 27, 2014].
- López F. y L. Ramírez. 2006. Caracterización química de hojas y raíces de los clones de yuca del banco de germoplasma de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Tesis de grado. pp. 8-14
- León R., D. Polanco, P. Zárraga, M. Zambrano, E. Ramos, D. Perdomo y A. Marín. 2013. Caracterización morfológica y agronómica del banco de germoplasma de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en el Campo Experimental de Revista de la Facultad de Agronomía. (En prensa).
- Marín A., D. Perdomo, J. Albarrán, F. Fuenmayor y C. Zambrano. 2008. Evaluación agronómica morfológica y bioquímica de clones élites de yuca a partir de vitroplantas. *INTERCIENCIA*. 33(5):27-35.
- Mejía de Tafur S. 2002. Fisiología de la yuca. La yuca en el tercer Milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Ceballos H, Ospina B (eds.). Valle del Cauca. pp. 34-45.

- Mejía de Tafur S., M.A. El-Sharkawy and F. Calle. 1997. Photosynthesis and yield performance of cassava in seasonally dry and semiarid environments. *Photosynthetica* 33(2):249-257.
- Montaldo A. y J.J. Montilla. 1996. La yuca frente al hambre del mundo tropical. In: La yuca frente al hambre del mundo tropical. A. Montaldo (Compilador). Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultades de Agronomía y Veterinaria pp. 19-34.
- Pla L. 1986. Análisis multivariado: Método de componentes principales. *Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico* 27:15-26.
- Polanco D. 1998. Caracterización morfológica, agronómica, isoenzimática, contenido de Cianuro y almidón en el banco de germoplasma in vivo de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) de la Facultad de Agronomía de la UCV. Trabajo de ascenso. Maracay, Ven. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. pp. 4-32.
- Portuondo M. y E. Ortega. 2012. Parámetros fundamentales del régimen de riego en el cultivo de la yuca clon señorita. Disponible en línea: HYPERLINK "<http://www.aguayriego.com/2012/01/parametros-fundamentales-del-regimen-de-riego-en-el-cultivo-de-la-yuca-clon-senorita/>". [Mar. 02, 2013].
- Preston T., L. Rodríguez, N. Van Lei y L. Chau. 2012. El follaje de la yuca (*Manihot esculenta Crantz*) como fuente de proteína para la producción animal en sistemas agroforestales. Disponible en línea: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/AGROFOR1/presto24.PDF> [Ene. 20, 2012].
- Ramos E. 2007. Contenido de almidón en el banco de germoplasma de yuca de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Tesis de grado. pp. 25-32.
- Salisbury F. y C. Ross. 1992. Fisiología de las plantas 1. España. Editorial Thomson. Madrid. pp. 99-126.
- Suárez L. y V. Mederos. 2011 Apuntes sobre el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta Crantz*). Tendencias actuales. *Cultivos Trop.* 32(3):27-35.
- Taiz L. y E. Zeiger. 2006. Fisiología Vegetal. Estados Unidos. Editorial Sinauer Associates. California. 105 p.
- Tofiño A., H. Ceballos y H.M. Romero. 2008. Posibilidades de expansión del cultivo de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) en el caribe seco colombiano a partir de investigación multidisciplinaria. *Actu Biol.* 30(88):15-27.



## Estabilidad fenotípica de híbridos de maíz en Venezuela utilizando el índice de superioridad y la regresión lineal bisegmentada

### Phenotypic stability of maize hybrids in Venezuela using the index of superiority and the bilinear regression

Rubén J. Silva Díaz<sup>1\*</sup>, Alberto A. Pérez Colmenares<sup>2</sup>, Sol A. Medina Montilla<sup>1</sup>, Juan E. Viloria Díaz<sup>1</sup>, Pedro J. García Mendoza<sup>2</sup>, Ana Duarte<sup>3</sup>, Jacinto Tablante<sup>4</sup> y Tirzo Pacheco<sup>5</sup>

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA <sup>1</sup>Guárico, <sup>2</sup>Portuguesa, <sup>3</sup>Barinas y <sup>4</sup>Yaracuy. <sup>5</sup>Privado. Compañía Anónima (HIMECA). Magdalena, estado Aragua. Venezuela.  
Correos electrónicos: rjsilva@inia.gob.ve\*, tizropacheco@hotmail.com

#### RESUMEN

El análisis de estabilidad fenotípica proporciona información detallada del comportamiento de cada genotipo frente a variaciones ambientales; en tal sentido, el objetivo de esta investigación fue detectar la presencia de interacción genotipo por ambiente y conocer la adaptabilidad y estabilidad fenotípica de 18 híbridos de maíz (*Zea mays* L.), utilizando los modelos: índice de superioridad y regresión lineal bisegmentada. Doce híbridos experimentales y seis testigos comerciales fueron sembrados en siete localidades de Venezuela durante la estación lluviosa del año 2012, en un diseño de bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El carácter evaluado fue rendimiento de grano (t ha<sup>-1</sup>). El análisis de varianza combinado mostró que el comportamiento de los híbridos fue inconsistente debido a las variaciones ambientales. Con el modelo índice de superioridad, los híbridos 'DK 1596' y 'Exp A-1' fueron identificados como estables, mientras que el modelo de la regresión lineal bisegmentada permitió identificar los híbridos: 'Exp A-1', 'Exp A-2', 'Exp A-3', 'Exp A -5', 'Exp B-1', 'Exp B-4', 'Pioneer 30F35' y 'DK-370' como estables. Con ambos modelos el híbrido 'Exp A-1' fue identificado como estable y el 'Exp B-4' como adaptable a condiciones favorables. El modelo de regresión lineal bisegmentada fue más discriminatorio que el índice de superioridad; por lo tanto, el primero de ellos fue más eficiente y adecuado para el análisis de adaptabilidad y estabilidad. Los híbridos 'Exp A-1' y 'Exp B-4' mostraron un buen comportamiento productivo en las diferentes localidades de evaluación, lo cual debería ser considerado para su liberación como cultivares comerciales.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., interacción genotipo por ambiente, previsibilidad, estabilidad, adaptabilidad.

#### ABSTRACT

The phenotypic stability analysis provides detailed information on the behavior of each genotype against environmental variations, in this sense, the objective of this research was to detect the presence of genotype by environment interaction as well as to know the adaptability and phenotypic stability of eighteen maize hybrids (*Zea mays* L.), by using the models index of superiority and bilinear regression. Twelve experimental hybrids and six commercial controls were planted in seven locations of Venezuela, during 2012 rainy season, in a randomized complete block design with three replications. The trait of interest was grain yield (t ha<sup>-1</sup>). Combined analyses of variance showed that hybrids performance were inconsistent because of environmental variations. With the model of index of superiority the hybrids 'DK 1596' and 'Exp A-1' were identified as stable, while the model of bilinear regression allowed to identify the hybrids: 'Exp A-1', 'Exp A-2', 'Exp A-3', 'Exp A -5', 'Exp B-1', 'Exp B-4', 'Pioneer 30F35' and 'DK-370' as stable. With both models the hybrid 'Exp A-1' was identified as stable whereas 'Exp B-4' as adaptable to favorable conditions. The model of bilinear regression was more discriminatory than the index of superiority; therefore, the first one was more efficient and suitable for the analysis of both adaptability and stability. The hybrids 'Exp A-1' and 'Exp B-4' showed a good productive performance in the different localities of evaluation, which should be considered for their release as commercial cultivars.

**Key words:** *Zea mays* L., genotype by environment interaction, predictability, stability, adaptability.

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela, el maíz (*Zea mays* L.) es el cereal de mayor importancia en superficie sembrada, volumen y valor de la producción. Es cultivado prácticamente en todo el territorio nacional y sometido a las más variadas condiciones ambientales.

Todo programa de mejoramiento genético de plantas en sus etapas preliminares, evalúa los cultivares desarrollados en una sola localidad y en las etapas finales son evaluados en varios sectores (Duarte y Vencovsky, 1999). Para que un programa de mejoramiento genético alcance su objetivo y desarrolle cultivares adaptados a las diversas condiciones productoras del país, es necesario que los genotipos sean evaluados en un gran número de localidades, que reflejen las condiciones ambientales a las cuales los cultivares serán sometidos (Pereira *et al.*, 2009a).

El comportamiento diferencial de los genotipos en las diversas localidades se debe a la interacción genotipo por ambiente (IGA), la ocurrencia de dicha interacción tiene gran importancia, principalmente para el carácter rendimiento de grano, ya que la mayoría de las veces, hace que los mejores genotipos en una determinada localidad no lo sean en otra, dificultando la recomendación de cultivares para toda la población. Una forma de sacar provecho de la IGA para la indicación de nuevos cultivares, es identificar genotipos con alta adaptabilidad y estabilidad fenotípica.

Cruz *et al.* (2004) señalan que existen más de una decena de metodologías de análisis de adaptabilidad y estabilidad destinadas a la evaluación de un grupo de materiales genotípicos probados en una serie de ambientes. Entre ellas destacan Plaisted y Peterson (1959); Finlay y Wilkinson (1963); Wricke (1965); Eberhart y Russell (1966); Gollob (1968); Tai (1971); Shukla (1972); Verma *et al.* (1978); Silva y Barreto (1985); Lin y Binns (1988); Cruz *et al.* (1989); Huehn (1990); Annicchiarico (1992); Storck y Vencovsky (1994); Silva (1995); Cornelius *et al.* (1996); Lin y Binns (1988), modificado por Carneiro (1998).

Diversos trabajos sobre el estudio de la adaptabilidad y estabilidad en varios cultivos, a través del uso de diferentes metodologías, han sido publicados en la literatura existente sobre arroz

(Muthuramu *et al.*, 2011; Acevedo *et al.*, 2010); avena blanca (Lorencetti *et al.*, 2004), caña de azúcar (Rea y Souza, 2002), caraota (Pereira *et al.*, 2009 b; Carbonell *et al.*, 2004; Piana *et al.*, 1999), centeno (Jalata, 2011); lenteja (Karimizadeh *et al.*, 2013), papa (Roa *et al.*, 2010), soya (Pereira *et al.*, 2009a) y en maíz (Oliveira *et al.*, 2014; García *et al.*, 2009; Alejos *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2006, Medina *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2000).

En el modelo de Lin y Binns (1988) se considera como medida para estimar el comportamiento genotípico, el cuadrado medio de la distancia entre la media del cultivar y la respuesta media máxima para todos los ambientes, de modo que, genotipos con menores valores corresponden a los de mejor desempeño. Este método pondera las desviaciones de comportamiento de los cultivares en los ambientes, o sea, considera la estabilidad de comportamiento. Además, toma en consideración el rendimiento del genotipo y la respuesta relativa a un genotipo hipotético que es una medida de adaptabilidad.

Cruz *et al.* (1989) presentan una extensión de la metodología propuesta por Silva y Barreto (1985), tornándola operacionalmente más simple y con propiedades estadísticas más adecuadas a los propósitos del mejoramiento.

El método de Cruz *et al.* (1989) se basa en la regresión bisegmentada y tiene como parámetros de adaptabilidad la media ( $B_{0i}$ ), la respuesta lineal a los ambientes desfavorables ( $B_{1i}$ ) y la respuesta lineal a los ambientes favorables ( $B_{1i} + B_{2i}$ ).

La estabilidad es evaluada por el cuadrado medio de los desvíos de la regresión y por el coeficiente de determinación  $R^2$ . Ambientes desfavorables son los que presentan índices ambientales negativos, mientras que los favorables son aquellos cuyos índices ambientales son positivos.

En los últimos años, trabajos científicos realizados en el país utilizando alguno de estos dos últimos métodos en cultivares de maíz, son pocos, se conocen los siguientes: Matzavrako (2006) y San Vicente *et al.* (2005).

Considerando los aspectos citados, se desarrolló el presente trabajo, con el objetivo de detectar la presencia de la interacción genotipo por ambiente,

así como conocer la adaptabilidad y la estabilidad de distintos híbridos de maíz sometidos a diferentes condiciones ambientales en diversas zonas de producción del rubro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Genético

Fueron evaluados dieciocho híbridos experimentales y comerciales de maíz de granos blanco y amarillo (Cuadro 1), de los cuales doce correspondieron a híbridos experimentales (siete de granos blanco y cinco de granos amarillo) generados por el programa de mejoramiento genético de maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) y seis híbridos comerciales (tres de granos blancos: 'Pioneer 4082W', 'DK 370' y 'D1A-255' y tres de granos amarillos: 'Dow 2B-710', 'Pioneer 30F35' y 'DK 1596') utilizados como testigos.

### Localidades de evaluación

La evaluación experimental de los híbridos fue realizada en el año agrícola 2012, en siete localidades diferentes ubicadas en los estados Portuguesa, Yaracuy, Aragua, Barinas y Guárico (Cuadro 2).

### Diseño experimental

Los dieciocho híbridos fueron sembrados en un mismo experimento en cada localidad, utilizando el diseño experimental bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. Cada parcela estuvo constituida por dos hileras de 5 m, sembradas con dos semillas por punto cada una y después de 25 días se realizó el entresaque dejando 25 plantas por hilera, fueron cosechadas las dos hileras de forma integral. El espaciamiento fue de 0,20 m entre plantas y 0,80 m entre hileras para una población de aproximadamente 62.500 plantas ha<sup>-1</sup>.

Cuadro 1. Híbridos de maíz evaluados en 7 localidades de Venezuela en el ciclo de lluvias de 2012.

Entrada	Cultivar	Tipo	Color de grano	Origen
G <sub>1</sub>	Exp B-1	Simple	Blanco	INIA
G <sub>2</sub>	Exp B-2	Simple	Blanco	INIA
G <sub>3</sub>	Exp B-3	Simple	Blanco	INIA
G <sub>4</sub>	Exp B-4	Simple	Blanco	INIA
G <sub>5</sub>	Exp B-5	Simple	Blanco	INIA
G <sub>6</sub>	Exp B-6	Simple	Blanco	INIA
G <sub>7</sub>	Exp B-7	Simple	Blanco	INIA
G <sub>8</sub>	Exp A-1	Simple	Amarillo	INIA
G <sub>9</sub>	Exp A-2	Simple	Amarillo	INIA
G <sub>10</sub>	Exp A-3	Simple	Amarillo	INIA
G <sub>11</sub>	Exp A-4	Simple	Amarillo	INIA
G <sub>12</sub>	Exp A-5	Simple	Amarillo	INIA
G <sub>13</sub>	Pioneer 4082W	Simple	Blanco	Pioneer
G <sub>14</sub>	DK 370	Simple	Blanco	Monsanto
G <sub>15</sub>	D1A-255	Simple	Blanco	Danac
G <sub>16</sub>	Dow 2B-710	Simple	Amarillo	Dow Agrosciences
G <sub>17</sub>	Pioneer 30F35	Triple	Amarillo	Pioneer
G <sub>18</sub>	DK 1596	Simple	Amarillo	Monsanto

Cuadro 2. Localidades de evaluación de los experimentos.

Estado	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	m.s.n.m.
Portuguesa	Agua Blanca	Santa Ana (1), Campo Exp. INIA Portuguesa	09°32'N 69°6'W	196
	Villa Bruzual	Turén (2), Campo Exp. INIA Portuguesa	09°16'N 69°5'W	275
Yaracuy	José A. Páez	Mayurupi (3), Campo Exp. INIA Yaracuy	10°7'31"N 69°2'6"W	320
	José A. Páez	Sabana de Parra (4), Finca La Blanquera	10°5'30"N 69°1'30"W	370
Aragua	Zamora	Magdaleno (5), Campo Exp. HIMECA	10°02'N 67°34'W	415
Barinas	Barinas	Punta Gorda (6), Campo Exp. INIA Barinas	08°32'43"N 70°08'32"W	180
Guárico	Ribas	Tucupido (7), Finca Roblecito	09°16'N 65°47'W	150

### Carácter evaluado

En los experimentos fue evaluado el carácter producción de granos (PG) como el peso total de granos de la parcela, expresado en gramos por parcela. A partir del PG fue calculado el rendimiento de granos (RG) corregido para 12% de humedad y transformado a toneladas por hectárea ( $t\ ha^{-1}$ ). Al rendimiento de granos se le realizó el análisis de covarianza para el ajuste de los datos, utilizando el promedio del número de plantas de la parcela como covariable.

Todos los ensayos fueron sembrados y cosechados en forma manual. El manejo agronómico estuvo acorde con las recomendaciones técnicas sugeridas para el cultivo en cada región.

### Análisis de varianza

Todos los análisis de varianza individuales y el combinado fueron realizados, por medio del programa computacional SAS (SAS Institute, 2003). Antes de efectuarlos se probó la distribución normal de los residuos, a través de la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965) y la homogeneidad de las varianzas de los residuos entre las localidades, a través de la prueba de Hartley (Hartley, 1950).

En la derivación de los cuadrados medios esperados y para la realización de las pruebas de F, los cultivares se consideraron efectos fijos, mientras que las repeticiones, localidades y las interacciones con localidades fueron consideradas efectos aleatorios.

El análisis de varianza combinado fue realizado según el modelo estadístico siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + l_k + r(l)_{j(k)} + gl_{ik} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Ecuación 1}$$

En que:  $Y_{ijk}$ : se refiere al valor observado del  $i$ -ésimo genotipo o cultivar en la  $j$ -ésima repetición de la  $k$ -ésima localidad;  $\mu$ : es el efecto de la media general;  $g_i$ : es el efecto fijo del  $i$ -ésimo genotipo, con  $i = 1, \dots, 18$ ;  $r(l)_{j(k)}$ : es el efecto aleatorio de la  $j$ -ésima repetición en la  $k$ -ésima localidad, con  $j = 1, \dots, 3$ ;  $l_k$ : es el efecto aleatorio de la  $k$ -ésima localidad, con  $k = 1, \dots, 7$ ;  $(gl_{ik})$  es el efecto aleatorio de la interacción del  $i$ -ésimo genotipo o cultivar con la  $k$ -ésima localidad,  $\varepsilon_{ijk}$ : es el error asociado a la observación  $Y_{ijk}$ .

El análisis de varianza combinado se efectuó sobre el rendimiento de grano a 12% de humedad expresado en  $t\ ha^{-1}$  a través de las 7 localidades, considerando un modelo mixto.

### Análisis de estabilidad

La detección de significancia en la IGA justifica una partición y análisis más detallado de este componente de varianza, en virtud que el método tradicional de análisis de varianza es poco informativo acerca de IGA y se utiliza para pocos ambientes. En tal sentido, la partición y análisis de IGA para el estudio de la estabilidad y adaptabilidad de cultivares, posterior a la detección de la misma, fue realizada a través de las metodologías propuestas por a) Lin y Binns (1988) y b) Cruz, Torres y Vencovsky (1989):

#### a) Método de Lin y Binns

Se basa en la estimación de un parámetro de adaptabilidad y estabilidad conocido como índice de superioridad ( $P_i$ ), a través del cual la estabilidad de un cultivar se evalúa mediante la suma de cuadrados de las diferencias entre el potencial productivo del cultivar de interés con el máximo rendimiento observado en cada localidad (máximas desviaciones del rendimiento), de modo que, genotipos con menores valores corresponden a los de mejor desempeño, para tal fin, se calcula  $P_i$  de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$P_i = \frac{\sum_{j=1}^n (\bar{X}_{ij} - Max_j)^2}{2n} \quad \text{Ecuación 2}$$

donde:

$P_i$  = Índice de superioridad y estabilidad del genotipo  $i$ ;  
 $\bar{X}_{ij}$  = Rendimiento o promedio del genotipo  $i$  en la localidad  $j$ ;

$Max_j$  = Rendimiento o promedio máximo en la localidad  $j$ ;  
 $n$  = Número de localidades o ambientes evaluados;

Este  $P_i$  se calcula a partir de la suma de cuadrados de las diferencias entre el genotipo de interés ( $\bar{X}_{ij}$ ) con respecto al genotipo de máximo rendimiento de cada ambiente ( $Max_j$ ),  $P_i$  representa el cuadrado medio del efecto conjunto de genotipos e IGA y por ser calculado con referencia a la máxima respuesta, determina la estabilidad del genotipo considerado.

En esta metodología el genotipo estable es el que presenta menor  $P_i$ , y cuando  $P_i$  es un valor inferior al cuadrado medio del error del análisis de varianza

conjunto, esto indica que existe paralelismo entre la respuesta máxima y el genotipo particular, lo que facilita al fitomejorador la toma de decisiones, ya que selecciona únicamente con base al índice de superioridad; en caso contrario, debe examinar la adaptabilidad de cada genotipo en cada ambiente particular. El análisis de varianza se utilizó para determinar la significancia del índice de superioridad de cada genotipo según lo indicado por Lin y Binns (1988).

Para describir el patrón de respuesta general entre todos los cultivares, fue calculado el coeficiente de la regresión ( $B_i$ ) de Finlay y Wilkinson (1963) sobre el índice ambiental, siendo que, valores de  $B_i$  inferiores a 0,7 indican genotipos adaptados a ambientes desfavorables y valores de  $B_i$  superiores a 1,3 genotipos adaptados a ambientes favorables.

El coeficiente de variación (CV) de cada cultivar fue calculado como el cociente entre la desviación estándar y la media general del  $i$ -ésimo cultivar multiplicado por 100, a través de la siguiente ecuación:

$$CVX_i(\%) = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_i)^2}{n-1}}}{\bar{X}_i} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

donde:

$X_{ij}$  = Rendimiento del cultivar  $i$  en la localidad  $j$ ;

$\bar{X}_i$  = Rendimiento o promedio del cultivar  $i$  a través de las localidades;

$n$  = Número de localidades o ambientes evaluados;

#### b) Método de Cruz, Torres y Venkovsky

Se basa en la regresión lineal bisegmentada, que tiene como parámetros de adaptabilidad la media ( $B_{0i}$ ) y la respuesta a los ambientes desfavorables ( $B_{1i}$ ) y a los favorables ( $B_{1i} + B_{2i}$ ). La estabilidad fue evaluada por las desviaciones de la regresión ( $\sigma^2\delta_i$ ) de cada genotipo en relación a las variaciones del ambiente y por el coeficiente de determinación  $R^2$ , conforme al modelo siguiente:

$$Y_{ijk} = B_{0i} + B_{1i} I_j + B_{2i} T(I_j) + \sigma^2\delta_i + gI_{ik} + \varepsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:  $Y_{ij}$ : es la media del  $i$ -ésimo genotipo en el  $j$ -ésimo ambiente;  $B_{0i}$ : es la media general de productividad del  $i$ -ésimo genotipo a través de todos los ambientes;  $B_{1i}$ : es el coeficiente de regresión

lineal que da la respuesta del *i*-ésimo genotipo a la variación en los ambientes desfavorables,  $l_j$ : es el índice ambiental codificado conforme propusieron Eberhart y Russell (1966);  $B_{2i}$ : es el coeficiente de regresión lineal que informa sobre el diferencial de respuesta del *i*-ésimo genotipo a la variación en los ambientes favorables,  $T(l_j) = 0$ , si  $l_j < 0$  ó  $T(l_j) = l_j - \frac{l_j^+}{l_j^-}$  si  $l_j > 0$ , siendo la media de los  $l_j$  positiva,  $\sigma^2\delta_i$ : es la varianza de la desviación de la regresión del *i*-ésimo genotipo a la variación de los ambientes;  $\varepsilon_{ijk}$ : es el error experimental del análisis combinado. La significancia de los parámetros de adaptabilidad y estabilidad fue calculada según Cruz *et al.* (2004).

En esta metodología el genotipo ideal es aquel que presenta alto rendimiento ( $B_{0i}$  superior a la media general), alta estabilidad con buen ajuste del modelo ( $\sigma^2\delta_i = 0$  y  $R^2 > 80\%$ ), baja sensibilidad a ambientes desfavorables ( $B_{1i} < 1$ ) y responde positivamente a mejoras del ambiente ( $B_{1i} + B_{2i} > 1$ ), Ferreira *et al.* (2006).

Para realizar la comparación entre estas metodologías, se estimó la correlación de Spearman entre los órdenes de clasificación de los genotipos obtenidos con base en los parámetros de adaptabilidad y estabilidad. En cada método, fue establecido un orden de clasificación en cuanto a la adaptabilidad y estabilidad, utilizando procedimientos semejantes a los descritos por Silva y Duarte (2006) y Pereira *et al.* (2009 b). Los parámetros de adaptabilidad y estabilidad proporcionados por cada método, fueron utilizados con igual peso para la definición de la clasificación de los cultivares.

En el método de Lin y Binns, los genotipos fueron ordenados por los estimados de  $P_i$  para todos los ambientes, colocando en el primer lugar el genotipo con menor valor.

En el método de la regresión lineal bisegmentada, los genotipos fueron ordenados por los estimados de los parámetros  $B_{1i}$ ,  $B_{1i} + B_{2i}$  y  $\sigma^2\delta_i$ , de la siguiente manera: Para el estimado del parámetro  $B_{1i}$  el genotipo que presentó el menor valor fue colocado en el primer lugar, para el estimado del parámetro  $\sigma^2\delta_i$  fue realizado el mismo procedimiento que para el parámetro  $B_{1i}$ , mientras que para el estimado del parámetro  $B_{1i} + B_{2i}$  el genotipo que presentó el mayor valor fue colocado en el primer lugar.

Posteriormente, fue calculado el posicionamiento medio de cada genotipo, obteniéndose la media de las clasificaciones para cada parámetro. Esas medias fueron ordenadas en orden creciente y los genotipos con menor valor fueron los más estables y adaptados. En lo que respecta al cálculo de la correlación se utilizó el programa Infostat versión 1.0 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 3 se presenta un resumen del análisis de varianza de cada ensayo, observándose que en todos los ensayos hubo diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre los híbridos, lo que revela un comportamiento diferencial de los cultivares, dentro de cada localidad.

Los coeficientes de variación obtenidos de los ensayos oscilaron de 6,70% a 17,42%, confirmando buena precisión a los mismos. Las medias generales de las localidades variaron de 4,47 t ha<sup>-1</sup> (Punta Gorda) a 9,07 t ha<sup>-1</sup> (Santa Ana), mientras las localidades de Magdaleno y Tucupido, presentaron rendimientos medios superiores a la media general (6,44 t ha<sup>-1</sup>).

La variación en las medias y los coeficientes de variación de los ensayos posiblemente se deba a diferencias en las condiciones climáticas, especialmente a las cantidades y distribución de las lluvias y a las condiciones de suelo de las localidades en que se condujeron los ensayos, lo que se reflejó también en el comportamiento diferencial de los híbridos en esas localidades (Cuadro 4). Valores de los coeficientes de variación y promedios de los rendimientos en grano de la misma magnitud fueron reportados por García *et al.* (2009).

En efecto, en el Cuadro 4 se constata que el análisis de varianza combinado reveló diferencias significativas ( $P < 0,01$ ), por la prueba de F, en cuanto a localidades, híbridos e interacción híbridos por localidad, lo que evidencia diferencias entre las localidades y entre los híbridos. Además, muestra que el comportamiento de los híbridos no fue coincidente en las diferentes localidades, este hecho dificulta la identificación de cultivares que puedan ser recomendados para todas las localidades evaluadas, justificando estudios más detallados de esa interacción.

Cuadro 3. Resumen del análisis de varianza del rendimiento en grano ( $t\ ha^{-1}$ ) de 18 híbridos de maíz en cada ensayo<sup>1</sup>.

Localidad	Cuadrados medios			Media ( $t\ ha^{-1}$ )	C. V. (%)
	Repeticiones	Híbridos	Error		
Santa Ana	0,8240	2,0044**	0,6702	9,07	9,03
Turén	1,4483	6,9877**	0,3125	5,24	10,68
Mayurupi	4,3263	5,2355**	0,7318	4,91	17,42
Sabana de Parra	3,0544	4,1641**	0,3239	6,34	8,98
Magdaleno	0,8969	1,7194**	0,3233	8,48	6,70
Punta Gorda	0,0351	2,8723**	0,3014	4,47	12,28
Tucupido	0,1509	2,6612**	0,8105	6,59	13,66

<sup>1</sup>Grados de libertad de repeticiones = 2; Híbridos = 17; Error = 34

\*\* Diferencias significativas al 1% de probabilidad por la prueba de F.

Cuadro 4. Análisis de varianza combinado del rendimiento en grano para 18 híbridos de maíz evaluados en 7 localidades de Venezuela, en el año 2012.

Fuentes de variación	G.L.	Cuadrados medios
Loc (L)	6	169,15**
Rep(Loc)	14	1,53**
Híbridos (H)	17	12,71**
H x L	102	2,16**
Error	238	0,50**
	CV (%)	10,93
	Media	6,44

\*\*Significativo al 1% de probabilidad por la prueba de F.

Interacciones GA significativas, han sido encontradas en investigaciones previas, evaluando la estabilidad fenotípica de cultivares de maíz en algunas de las localidades consideradas en este estudio (García *et al.*, 2009; San Vicente *et al.* 2005; Medina *et al.* 2002).

El rendimiento en grano promedio de los cultivares (Cuadro 5) varió de  $8,16\ t\ ha^{-1}$  (DK 1596) a  $5,06\ t\ ha^{-1}$  (D1A-255) evidenciando el potencial productivo del cultivo en las localidades evaluadas.

En el Cuadro 5 se presentan las medias por localidades y por cultivares, el CV del RG para cada cultivar y el desempeño por genotipo en comparación

a la media de los testigos, tomando en cuenta para comparar los híbridos amarillo, la media de los testigos amarillo y para los híbridos blanco, la media de los testigos blancos, así como los estimados del coeficiente de regresión ( $Bi$ ) y el estadístico ( $Pi$ ) según la metodología de Lin y Binns (1988).

Las localidades Santa Ana (estado Portuguesa) y Magdaleno (estado Aragua) fue donde los cultivares expresaron mejor su potencial productivo, predominando condiciones favorables al cultivo y alcanzando estas localidades medias, RG de 40,77 y 31,69%, superiores a la media general de los experimentos, respectivamente.

Cuadro 5. Medias de rendimiento y estimados de los parámetros de adaptabilidad y estabilidad de 18 híbridos de maíz en siete localidades de Venezuela.

Híbridos	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )/localidad							Rend. Medio (t ha <sup>-1</sup> )	CV (%)	Testigo (%)	$B_i$	$P_i^1$ (t ha <sup>-1</sup> )
	1	2	3	4	5	6	7					
DK 1596	9,63	8,20	8,45	6,85	10,23	5,47	8,28	8,16	19,72	100,0	0,70	0,44
Exp A-1	9,54	7,89	6,62	7,80	8,83	5,94	6,29	7,56	17,76	92,6	0,63	0,86
Exp A-4	10,14	6,80	5,48	7,83	8,58	6,56	6,17	7,37	21,69	90,3	0,78	1,13*
Exp A-2	9,80	6,01	5,07	7,03	8,78	4,25	6,86	6,83	28,73	83,7	1,09	1,38*
Exp B-4	10,33	4,94	5,36	7,21	9,31	4,08	7,03	6,90	33,45	111,6	1,31	1,44*
Exp A-5	9,65	6,42	5,30	5,86	8,49	4,81	5,61	6,59	27,20	80,8	0,93	1,48*
Exp A-3	9,37	5,96	4,93	7,00	8,31	5,65	5,50	6,67	24,48	81,8	0,84	1,49*
Dow 2B-710	9,81	4,34	6,23	5,97	8,34	4,94	6,84	6,64	28,71	81,4	0,99	1,51*
Pioneer 30F35	8,51	4,73	5,18	5,64	9,12	4,19	7,61	6,43	30,49	78,8	1,04	1,65*
Exp B-1	8,33	4,19	4,59	6,95	8,73	4,41	7,99	6,45	31,06	104,5	1,03	1,75*
DK 370	8,81	4,94	5,01	5,72	8,66	3,88	6,23	6,18	30,63	100,0	1,06	1,75*
Exp B-2	8,94	3,85	4,34	7,24	8,77	3,64	7,51	6,33	36,71	102,4	1,24	1,88*
Exp B-5	8,69	4,07	4,04	6,93	8,28	4,42	6,61	6,15	32,23	99,5	1,07	1,91*
Pioneer 4082W	9,31	6,03	2,92	6,72	8,25	4,09	5,59	6,13	36,32	99,2	1,15	1,98*
Exp B-6	7,02	3,33	4,50	5,99	7,92	4,16	6,76	5,67	29,99	91,7	0,85	2,19*
Exp B-7	8,35	5,29	3,49	4,74	7,92	2,35	5,79	5,42	40,28	87,7	1,18	2,33*
Exp B-3	8,77	2,26	3,68	5,62	6,55	4,09	7,24	5,46	41,37	88,3	1,09	2,48*
D1A-255	8,27	4,97	3,22	2,99	7,65	3,58	4,75	5,06	41,90	81,9	1,06	2,58*

\*Significativo al 5% de probabilidad según la prueba de F. 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 se refieren a las localidades de Santa Ana, Turén, Mayurupi, Sabana de Parra, Magdaleno, Punta Gorda y Tucupido, respectivamente. <sup>1</sup>Raíz cuadrada de  $P_i$ . Estimados de los parámetros de adaptabilidad ( $B_i$ ) y estabilidad ( $P_i$ ) según el método de Lin y Binns (1988), ordenados por valores de la raíz cuadrada de  $P_i$ .

En este sentido, las localidades Punta Gorda (estado Barinas), Mayurupi (estado Yaracuy) y Turén (estado Portuguesa), presentaron medias de RG inferior a la media general en 30,59, 23,76 y 18,77%, respectivamente. Las localidades Tucupido (estado Guárico) y Sabana de Parra (estado Yaracuy) presentaron RG medios similares a la media general de los experimentos.

En cuanto a los genotipos, los híbridos D1A-255 (testigo blanco) y Exp B-3 fueron los que mostraron la mayor variación en el RG, evidenciado por presentar los mayores valores del CV (41,90% y 41,37%, respectivamente), siendo a su vez estos híbridos, los que presentaron los menores

valores del RG, así como el menor desempeño en comparación al promedio de sus testigos.

Los cultivares DK 1596 y Exp A-1 presentaron RG más homogéneos a través de las localidades, mostrándose por consiguiente como los de menor variación del RG (CV de 19,72 y 17,76%, respectivamente), en granos mayores y de mejor desempeño en comparación al promedio de sus testigos.

En términos generales los híbridos experimentales amarillos mostraron, en promedio, RG superior a los híbridos blancos en 15%, igual comportamiento presentaron los testigos amarillos en relación a los testigos blancos.

Estimados de los parámetros de adaptabilidad y estabilidad ( $P_i$ ) mostraron que dentro de los cultivares evaluados, los híbridos DK 1596 y Exp A-1 no presentaron diferencias significativas para este parámetro y pueden ser seleccionados como no diferentes de la respuesta máxima del RG, por lo tanto, presentan un comportamiento más previsible a las localidades incluidas en este estudio, siendo considerados como estables, mientras que el resto de los híbridos presentaron valores  $P_i$  estadísticamente significativos por lo que no son estables.

No obstante, a pesar que el híbrido Exp A-1, presentó un valor de  $P_i$  no significativo, considerándose estable, fue el único cultivar que obtuvo un valor de  $B_i$  inferior a 0,70, por lo que es un cultivar adaptado a localidades desfavorables, ubicándose como segundo cultivar más rendidor en las localidades de Punta Gorda, Mayurupi y Turén.

La estabilidad en este método estuvo siempre asociada a mayor productividad de los cultivares, Carbonell *et al.* (2004) evaluando 18 cultivares de frijol en 23 ambientes identificaron cuatro cultivares estables, estos cultivares pertenecían al grupo más productivo.

Lin y Binss (1988) señalan que la adaptabilidad específica de un cultivar puede ser identificada considerando la respuesta máxima y la respuesta del cultivar de interés sobre la media de la localidad, así como del valor del coeficiente de la regresión  $B_i$ , por lo que el híbrido Exp B-4 es un cultivar adaptado a localidades favorables, en virtud que este híbrido obtuvo un valor de  $B_i$  superior a 1,30 ubicándose como el primero y segundo cultivar de mayor rendimiento en las localidades de Santa Ana y Magdalena, respectivamente.

El Cuadro 6 muestra el análisis de regresión según la metodología propuesta por Cruz *et al.* (1989), se observa que hay respuestas significativas ( $P < 0,01$ ) a las variaciones ambientales tanto en los ambientes favorables como en los desfavorables, para todos los híbridos, excepto para el híbrido Exp B-7, evidenciado por la significancia de los cuadrados medios de la regresión lineal bisegmentada.

Observándose los estimados de los parámetros de adaptabilidad y estabilidad (Cuadro 6), se

nota que los rendimientos medios de granos ( $B_{0i}$ ) variaron de 5,06 t ha<sup>-1</sup> (D1A-255) a 8,16 t ha<sup>-1</sup> (DK 1596), con media de 6,44 t ha<sup>-1</sup>, revelando el buen comportamiento productivo de los híbridos evaluados. Cultivares con rendimientos medios superior a la media general son los mejor adaptados (Vencovsky y Barriga, 1992).

Los materiales con rendimientos superiores a la media general ( $B_{0i} > 6,44$ ) expresaron buena adaptación, destacándose entre ellos los híbridos DK 1596, Exp A-1, Exp A-4, Exp B-4, Exp A-2 y Exp A-3, Dow 2B-710, Exp A-5 y Exp B-1.

Entre los cultivares que presentaron buena adaptación se verificó que el estimado  $B_{ii}$ , el cual evalúa el desempeño de los materiales en condiciones desfavorables, reveló que la mayoría de estos híbridos son exigentes en esas condiciones ( $B_{ii}$ , estadísticamente significativos), a excepción de los híbridos Exp A-2 y Dow 2B-710, no obstante, el híbrido Exp A-2 presenta un  $B_{ii} > 1$ .

El estimado de  $B_{ii} + B_{2i}$ , que evalúa las respuestas de los materiales en los ambientes favorables, evidenció, que el cultivar Dow 2B-710 responde a las mejoras del ambiente ( $B_{ii} + B_{2i} > 1$ ).

En esta metodología la previsibilidad de un cultivar puede ser evaluada a través de la varianza de los desvíos de la regresión y del estimado del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), expresando mejor la estabilidad de rendimiento en grano en las localidades consideradas ¿FALTA ALGO? aquellos cultivares que presenten valores de  $R^2$  superiores al 80%.

Los híbridos Exp A-1, Exp A-2, Exp A-3, Exp A-5, Exp B-1, Exp B-4, Pioneer 30F35 y DK-370 se destacan como aquellos con comportamiento medio de mayor previsibilidad o estabilidad ( $\sigma^2\delta_i = 0$ , cuadrados medios de los desvíos de la regresión no significativos), para los demás cultivares se tiene  $\sigma^2\delta_i \neq$  de cero.

El coeficiente de determinación puede variar de 0 a 100%, se puede inferir que los híbridos evaluados presentaron un alto nivel de previsibilidad o estabilidad, una vez que solo tres de ellos presentaron valores de  $R^2$  inferiores a 80%.

Cuadro 6. Análisis de varianza de la regresión y parámetros de adaptabilidad y estabilidad para 18 genotipos de maíz evaluados en siete localidades.

Genotipos	Cuadrados medios				Media en las localidades (t ha <sup>-1</sup> )				$B_{ii}$	$B_{ii} + B_{2i}$	$\sigma^2\delta_i$	$R^2$ (%)
	Loc/Gen	Reg	Desvíos	General	Desfav.	Favorables	General					
DK 1596	7,76	13,64***	4,82***	8,16	7,24	9,38	0,70++	0,66N.S.	1,44	58,58		
Exp A-1	5,40	14,06***	1,08N.S.	7,56	7,06	8,22	0,48++	1,32N.S.	0,19	86,71		
Exp A-4	7,66	20,56***	1,21***	7,37	6,67	8,30	0,62++	1,52++	0,24	89,47		
Exp B-4	15,96	46,84***	0,51N.S.	6,90	5,40	8,89	1,29++	1,30N.S.	0,01	97,86		
Exp A-2	11,54	33,67***	0,48N.S.	6,83	5,59	8,48	1,08N.S.	1,14N.S.	-0,01	97,25		
Exp A-3	8,01	22,85***	0,58N.S.	6,67	5,89	7,73	0,69++	1,54++	0,03	95,13		
Dow 2B-710	10,90	27,88***	2,41***	6,64	5,37	8,33	0,97N.S.	1,10N.S.	0,64	85,27		
Exp A-5	9,64	27,23***	0,85N.S.	6,59	5,60	7,91	0,79++	1,60++	0,12	94,14		
Exp B-1	12,06	34,23***	0,97N.S.	6,45	5,03	8,35	1,21++	0,20++	0,16	94,65		
Pioneer 30F35	11,52	32,64***	0,96N.S.	6,43	4,94	8,41	1,17N.S.	0,47++	0,15	94,44		
Exp B-2	16,18	45,74***	1,41***	6,33	4,77	8,41	1,38++	0,60N.S.	0,30	94,20		
DK 370	10,75	31,50***	0,38N.S.	6,18	4,89	7,90	1,05N.S.	1,10N.S.	-0,04	97,67		
Exp B-5	11,78	32,75***	1,29***	6,15	4,86	7,86	1,12N.S.	0,85N.S.	0,27	92,67		
Pioneer 4082W	14,88	37,93***	3,36***	6,13	4,94	7,72	1,08N.S.	1,48++	0,95	84,96		
Exp B-6	8,67	22,45***	1,78***	5,67	4,49	7,23	0,98N.S.	0,23++	0,43	86,29		
Exp B-3	15,30	36,49***	4,70***	5,46	3,91	7,52	1,24++	0,37++	1,40	79,51		
Exp B-7	14,29	39,00N.S.	1,94***	5,42	3,97	7,35	1,20N.S.	1,05N.S.	0,48	90,94		
D1A-255	13,50	32,10***	4,20***	5,06	3,69	6,89	0,96N.S.	1,45++	1,23	79,27		

N.S.:\*No significativo; \* y \*\*significativamente diferentes de cero al 5 y 1% de probabilidad según la prueba de F, respectivamente; + y ++significativamente diferentes de la unidad, para  $B_{ii}$  y  $B_{ii} + B_{2i}$ , al 5 y 1% de probabilidad según la prueba de t de Student, respectivamente. Estimados de los parámetros de adaptabilidad y estabilidad según la metodología de Cruz *et al.* (1989).

Considerando los parámetros de adaptabilidad y estabilidad mostrados en el Cuadro 6, se evidencia que el cultivar ideal propuesto por el modelo de regresión lineal bisegmentado ( $B_{0i} >$  media general,  $B_{1i} < 1$ ,  $B_{1i} + B_{2i} > 1$ ,  $\sigma^2\delta_i = 0$ , y  $R^2 > 80\%$ ) no fue encontrado en los híbridos evaluados.

Estudiando la adaptabilidad y estabilidad fenotípica de cultivares de maíz, Brito *et al.* (2005), Vendruscolo *et al.* (2001) y Carvalho *et al.* (2000), no lograron identificar el cultivar ideal en los cultivares por ellos evaluados.

De forma semejante, no fue encontrado cualquier cultivar que cumpla todos los requisitos necesarios para la adaptabilidad a ambientes desfavorables, o sea, que presente rendimiento medio de granos alto ( $B_{0i} >$  media general),  $B_{1i}$  y  $B_{1i} + B_{2i}$  el menor posible ( $B_{1i} < 1$ , menos exigente en condiciones desfavorables y  $B_{1i} + B_{2i} < 1$ , no responda a mejoras del ambiente); resultados que son coincidentes a los obtenidos por Brito *et al.* (2005).

El cultivar Dow 2B-710 resultó más adaptable a condiciones favorables, ya que exhibió  $B_{0i} >$  media general,  $B_{1i} < 1$  y  $B_{1i} + B_{2i} > 1$ , no obstante, puede también ser recomendado para este tipo de ambientes el cultivar Exp B-4, por exhibir  $B_{0i} >$  media general y ser exigente en las condiciones desfavorables ( $B_{1i} > 1$ ), ya que responde a las mejorías del ambiente ( $B_{1i} + B_{2i} > 1$ ).

Las localidades Santa Ana, Magdalena y Tucupido fueron las de mayor potencial productivo, considerándose ambientes favorables, ya que presentaron índices ambientales positivos, mientras que Punta Gorda, Mayurupí, Turén y Sabana de Parra son consideradas ambientes desfavorables por sus índices ambientales negativos.

Estos resultados, en parte, coinciden con los reportados por San Vicente *et al.* (2005) y son contrarios a los reportados por García *et al.* (2009); los primeros autores consideraron a Turén como una localidad discriminatoria de los genotipos y Punta Gorda como una localidad neutra, mientras que García *et al.* (2009) reportan lo opuesto. Esta falta de correspondencia entre las localidades puede atribuirse a la variación ambiental que se presenta a través del tiempo y demuestra la importancia de realizar las evaluaciones en múltiples localidades, periódicamente.

El estimado del coeficiente de correlación de Spearman ( $r = 0,25$ ), entre los órdenes de clasificación de los genotipos obtenidos, con base en los parámetros de adaptabilidad y estabilidad de los métodos índice de superioridad y regresión lineal bisegmentada, presentó un valor no significativo según la prueba de t de Student, indicando que esos métodos pueden ser utilizados en conjunto y así proporcionar información complementaria de la adaptabilidad y estabilidad de los cultivares evaluados.

Similar resultado fue obtenido por Pereira *et al.* (2009 b) comparando estas metodologías, obteniendo un valor no significativo del coeficiente de correlación de Spearman de 0,15. Silva y Duarte (2006) tampoco encontraron correlación entre el método de Lin y Binns y métodos que utilizan la regresión, señalando que métodos basados en diferentes principios deben ser utilizados en conjunto.

El modelo de regresión lineal bisegmentada permitió identificar mayor cantidad de genotipos estables en relación al método del índice de superioridad, esto posiblemente se deba a que el método proporciona mayor cantidad de información relacionada al comportamiento de los cultivares a través de los ambientes o localidades. Oliveira (1976) verificó que los métodos que se basan en un mayor número de parámetros de estabilidad son más eficientes para la caracterización de genotipos en cuanto a la estabilidad.

## CONCLUSIONES

El modelo de Lin y Binns permitió recomendar como estables los cultivares DK 1596 y Exp A-1, mientras que el modelo de Cruz y colaboradores identificó como estables a los híbridos Exp A-1, Exp A-2, Exp A-3, Exp A-5, Exp B-1, Exp B-4, Pioneer 30F35 y DK-370.

El modelo índice de superioridad y el de regresión lineal bisegmentada, identificaron al híbrido Exp A-1 como estable y al Exp B-4 como el cultivar mejor adaptado a condiciones ambientales favorables.

El modelo de la regresión lineal bisegmentada fue más discriminatorio que el índice de superioridad

en cuanto al estudio de la adaptabilidad y estabilidad de los cultivares.

Los híbridos Exp A-1 y Exp B-4 mostraron un buen comportamiento productivo en las diferentes localidades de evaluación, por lo que se sugiere su inclusión en los ensayos de validación agronómica de cultivares del Servicio Nacional de Semillas (SENASA) para el otorgamiento de la elegibilidad.

La débil asociación ( $r = 0,25$ ) entre los métodos de Linn y Binns y el de Cruz y colaboradores producen clasificaciones genotípicas diferentes en cuanto a la estabilidad fenotípica y, unida a la complementariedad de sus informaciones, permite indicar su uso combinado en estudios de adaptabilidad y estabilidad fenotípica.

#### LITERATURA CITADA

- Acevedo M., E. Reyes, W. Castrillo, O Torres, C. Marín, R. Álvarez, O. Moreno y E. Torres. 2010. Estabilidad fenotípica de arroz de riego en Venezuela Utilizando los modelos Lin-Binns y AMMI. *Agronomía Trop.* 60(2):131-138.
- Alejos G., P. Monasterio y R. Rea. 2006. Análisis de la interacción genotipo - ambiente para rendimiento de maíz en la región maicera del estado Yaracuy, Venezuela. *Agronomía Trop.* 56(3):369-384.
- Annicchiarico P. 1992. Cultivar adaptation and recommendation from alfalfa trials in Northern Italy. *Journal of Genetic and Breeding* 46:269-278.
- Brito A.R. M. B., J. N. Tabosa, H.W. L. Carvalho, M. X. dos Santos, J.A. Tavares, F.M. Dias, M.M. A. do Nascimento, J.J. T. Filho e E. M. de Souza. 2005. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado de Pernambuco. *Rev. Ciên. Agrônômica* 36(3):348-353.
- Carbonell S.A. M., J.A. de Azevedo Filho, L. A. dos Santos Dias, A.A. F. Garcia and L.K. de Morais. 2004. Common bean cultivars and lines Interactions with environments. *Sci. Agric.* 61(2):169-177.
- Carneiro P. C.S. 1998. Novas metodologias de análise da adaptabilidade e estabilidade de comportamento. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa. UFV. 178 p.
- Carvalho E.W. L. De, M.L. da S. Leal, M.X. dos Santos, M.J. Cardoso, A.A. T. Monteiro e J.N. Tabosa. 2000. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste Brasileiro. *Pesq. agropec. bras.* 35(6):1.115-1.123.
- Cornelius P.L., J. Crossa and M.S. Seyedsadr. 1996. Statistical tests and estimators of multiplicative models for genotype-by-environment interaction. In: S. Manjit, H.G. Kang y Jr. Gauch (eds.). *Genotype by Environment Interaction* pp. 199-233.
- Cruz C.D., A.J. Regazzi e P.C. S. Carneiro. 2004. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Universidade Federal de Viçosa. Ed. UFV. Viçosa, Minas Gerais, Brasil 2da ed. 390 p.
- Cruz C.D., R.A. de Torres and R. Vencovsky. 1989. Na alternative approach to the stability analysis by Silva and Barreto. *Revista Brasileira de Genética* 12:567-580.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Duarte J.B. e R. Vencovsky 1999. Interação genótipos x ambientes: uma introdução à análise "AMMI". Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 60 p. (Série monografias, 9).
- Eberhart S.A. and W.A. Russell. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* 6(1):36-40.
- Ferreira F.F., C.G. Borges, B.F. John, A. Machado and R. Vencovsky. 2006. Statistical models in agriculture: biometrical methods for evaluating phenotypic stability in plant breeding. *CERNE*, 12(4):373-388.
- Finlay K.W. and G.N. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Austr. J. Agric. Res.* 14:742-754.
- García P., S. Cabrera, A. Pérez, R. Silva, R. Álvarez, C. Marín, P. Monasterio y M.

- Santella. 2009. Estabilidad del rendimiento y potencial agronómico de cultivares de maíz de endospermo normal y QPM en zonas agroecológicas de Venezuela. *Agronomía Trop.* 59(4):433-443.
- Gollob H.F.A. 1968. Statistical model which combines features of factor analytic and analysis of variance techniques. *Psychometrika* 33(1):73-115.
- Hartley H.O. 1950. The use of range in analysis of variance. *Biometrika*, London 37:271-280.
- Huehn M. 1990. Nonparametric measures of phenotypic stability. Part 2: Applications. *Euphytica* 47:195-201.
- Jalata Z. 2011. GGE biplot analysis of multi-environment yield trials of Barley (*Hordeium vulgare* L.) genotypes in southeastern Ethiopia Highlands. *Int. J. Plant. Breed. Genet.*
- Karimizadeh R., M. Mohammadi, N. Sabaghni, A.A. Mahmoodi, B. Roustami, F. Seyyedi and F. Akbari. 2013. GGE Biplot analysis of yield stability in multi-environment trials of lentil genotypes under rainfed condition. *Not Sci Biol.* 5(2):256-262.
- Lin C.S. and M.R. Binns. 1988. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Canadian Journal of Plant Science* 68:193-198.
- Lorencetti C., F.I. F. de Carvalho, V.S. Marchioro, G. Benin, A.C. de Oliveira e E.L. Foss. 2004. Implicações da aplicação de fungicida na adaptabilidade e estabilidade de rendimento de grãos em aveia branca. *Ciência Rural.* 34(3):693-700.
- Matzavrako K. 2006. Estimación y comparación de parámetros de estabilidad con fines de selección y recomendación en función de los ensayo regionales uniformes de maíz (*Zea mays* L.) del INIA. Tesis de Magister Scientiarum. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 189 p.
- Medina S., C. Marín, V. Segovia, A. Bejarano, Z. Venero, R. Ascanio y E. Meléndez. 2002. Evaluación de la estabilidad del rendimiento de variedades de maíz en siete localidades de Venezuela. *Agronomía Trop.* 52(3):255-275.
- Moreira L.B., M.B. Pereira e H. Marcos. 2006. Correlação entre os parâmetros de estabilidade e de adaptabilidade de cultivares dos métodos de Cruz, Torres & Vencovsky e Moreira. *Rev. Univ. Rural, Sér. Ci. da Vida*, RJ. 26(1):33-41.
- Muthuramu S., S. Jebaraj and M. Gnanasekaran. 2011. AMMI biplot analysis for drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Research Journal of Agricultural Sciences* 2(1):98-100.
- Oliveira A.C. de. 1976. Comparação de alguns métodos de determinação da estabilidade em plantas cultivadas. Dissertação (Mestrado), Universidade de Brasília, Brasília 62 p.
- Oliveira R. L. de, Von P. R.G., D.F. Ferreira, L.P. M. Pires and W.M. C. Melo. 2014. Selection index in the study of adaptability and stability in maize. *The Scientific World Journal*, Article ID 360570, 6 pages.
- Pereira D.G., T. Sedyama, C.D. Cruz, M.S. Reis, J.L. L. Gomes, R. de C. Teixeira e A.P. O. Nogueira. 2009a. Adaptabilidade e estabilidade de reação de genótipos de soja ao oídio, em casa de vegetação. *Biosci. J.* 25(1):42-52.
- Pereira H.S., L.C. Melo, M.J. del Peloso, L.C. de Faria, J.G. C. da Costa, J.L. C. Díaz, C.A. Rava e A. Wendland. 2009b. Comparação de métodos de análise de adaptabilidade e estabilidade fenotípica em feijoeiro-comum. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília 44(4):374-383.
- Piana C.F. de B., I.F. Antunes, J.G. C. da Silva e E.P. Silveira. 1999. Adaptabilidade e estabilidade do rendimento de grãos de genótipos de feijão. *Pesq. agropec. bras.* 34(4):553-564.
- Plaisted R.L. and L.C. Peterson. 1959. A technique for evaluating the ability of selections to yield consistently in different locations and seasons. *Amer. Pot. J.* 36:381-385.
- Rea R. and O. de Sousa. 2002. Genotype x environment interaction in sugarcane yield trials in the central-western region of Venezuela. *Interciencia* 27:620-624

- Ribeiro P.H. E., M.A. P. Ramalho e D.F. Ferreira. 2000. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de milho em diferentes condições ambientais. *Pesq. Agropec. Bras.* 35(11):2.213-2.222.
- Roa S., C. Barboza y A. Zambrano. 2010. Estabilidad del rendimiento de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) para procesamiento industrial en el estado Táchira, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. S. 27:173-192.
- San Vicente F., C. Marín y D. Díaz. 2005. Estabilidad del rendimiento y potencial agronómico de híbridos de maíz de alta calidad de proteína (QPM) en Venezuela. *Agronomía Trop.* 55(3):397-410.
- SAS Institute. Statistical analysis software: SAS 9.1. 2003. Cary-NC, EUA.
- Shapiro S.S. and M.B. Wilk. 1965. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*, London 52(3/4):591-611.
- Shukla G.K. 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* 29:237-245.
- Silva J.G. C. da. 1995. Análise da estabilidade através de regressão linear segmentada. I. Fundamentos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília 30(4):435-448.
- Silva J.G. C. e J.N. Barreto. 1985. Aplicação da regressão linear segmentada em estudos da interação genótipo x ambiente. In: Simpósio de experimentação agrícola, 1, Piracicaba. (Resúmenes).
- Silva W.C. J. e J.B. Duarte. 2006. Métodos estatísticos para estudo de adaptabilidade e estabilidade fenotípica em soja. *Pesq. agropec. bras.* 41(1):23-30.
- Storck L. and R. Vencovsky. 1994. Stability analysis based on a bi-segmented discontinuous model with measurement errors in the variables. *Brazil J. Genetics*. 17(1):75-81.
- Tai G.C. C. 1971. Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. *Crop Sci. Madison* 11:184-190.
- Vencovsky R. e P. Barriga. 1992. Genética biométrica no fitomelhoramento. Riberão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 496 p.
- Vendruscolo E.C. G., C.A. Scapim, C.A. P. Pacheco, V.R. de Oliveira, A.L. Braccini e M.C. G. Vidigal. 2001. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho-pipoca na região centro-sul do Brasil. *Pesq. agropec. bras.* 36(1):123-130.
- Verma M.M., G.S. Chahal and B.R. Murty. 1978. Limitations of conventional regression analysis: a proposed modification. *Theoric Applied Genetic* 53:89-91.
- Wricke G. 1965. Zur berechnung der okovalenz bei sommerweizen und hafer. *Pflanzenzuchtung*, Berlin 52:127-138.