



# **Caracterización morfo-agronómica y de la fertilidad en una población tetraploide sintética sexual de *Paspalum notatum* Flüggé**

Autor: Roberto Ramón SCHULZ

Lugar de trabajo: Cátedra de Genética y Fitotecnia,  
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del  
Nordeste.

Asesor:  
Ing. Agr. (Dr.) Alex Leonel Zilli

2017

## **ÍNDICE**

Agradecimientos.....	3
Dedicatoria.....	4
Resumen.....	5
Introducción.....	6
Hipótesis de trabajo.....	10
Objetivos.....	11
Materiales y Métodos	
Material vegetal.....	12
Análisis morfológicos y agronómicos.....	14
Análisis de la fertilidad.....	15
Análisis estadístico.....	16
Resultados	
Caracterización morfológica y agronómica de la PTSS.....	17
Producción de semillas de la PTSS.....	25
Comparación de la fertilidad entre GDS, GTSE y la PTSS.....	26
Discusión	
Variabilidad Morfo-agronómica.....	28
Fertilidad.....	30
Conclusiones.....	33
Bibliografía.....	34

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Señor.*

*A mis padres y mis abuelos, por la formación de mi persona y los valores inculcados. Por ser pródigos en lo esencial y moderados en lo superfluo, por su ejemplo intachable y por brindarme todas las posibilidades y el apoyo necesario para cumplir los objetivos que me propongo.*

*A todos los integrantes del grupo de trabajo Genética de Pastos, en especial a los Dres. Alex Zilli, Eric Martínez y Carlos Acuña, por toda la paciencia, la confianza, el apoyo y la ayuda tan generosamente brindada durante todos estos años. Por participar y ser un ejemplo en mi formación tanto personal como profesional.*

*A Julio. Y a todos mis amigos, especialmente a la Subcomi.*

*Y a la razón de todos mis afanes.*

*A mi abuelo, Roberto Schulz.*

## RESUMEN

*Paspalum notatum* Flüggé es una gramínea perenne nativa de los pastizales tropicales y subtropicales de América, siendo además una de las pasturas más cultivadas del sudeste norteamericano. Es una especie multiploide de citotipos diploides sexuales alógamos y poliploides apomícticos pseudogámicos. El citotipo tetraploide apomíctico es el predominante en todo el área de distribución. El conocimiento de la diversidad genética y reproductiva de la especie es clave para planificar una estrategia para su mejoramiento genético. La generación reciente de una población tetraploide sintética sexual en la especie fue la base para iniciar un programa de mejoramiento.

Los objetivos del presente trabajo fueron: I) Evaluar la variabilidad morfo-agronómica de una población tetraploide sintética sexual (PTSS) y compararla con la de sus progenitores sexuales y apomícticos originales. II) Estimar la fertilidad de la PTSS, genotipos diploides sexuales (GDS) y tetraploides sexuales experimentales (GTSE), en base a la producción de semillas en condiciones de autopolinización forzada y polinización abierta, y III) comparar la fertilidad de la PTSS con la registrada en los GDS y GTSE.

La variabilidad morfo-agronómica fue evaluada a partir de 6 caracteres morfológicos y 4 agronómicos sobre 140 individuos de la PTSS, 3 GTSE y 10 genotipos tetraploides apomícticos naturales (GTAN). La fertilidad de la PTSS fue estimada sobre una muestra al azar de 29 a 31 individuos y en base a mediciones de producción de semillas en tres años (2014, 2015 y 2016). La producción de semillas de los 3 GTSE y 2 GDS sólo fue medida junto con la PTSS en el año 2016.

En términos generales, los caracteres agronómicos mostraron una variabilidad superior a los morfológicos, siendo el más variable la producción de biomasa ( $CV=81,8\%$ ) y el menos variable el ancho de hoja ( $CV=14,9\%$ ). El análisis de componentes principales reveló una alta variabilidad en la PTSS, siendo su dispersión superior a la observada en los GTSE y GTAN. No se encontraron correlaciones negativas entre las variables analizadas, reportándose fuertes correlaciones, principalmente entre las variables agronómicas. Se registraron altas proporciones de individuos de la PTSS con un comportamiento superior para los caracteres agronómicos evaluados.

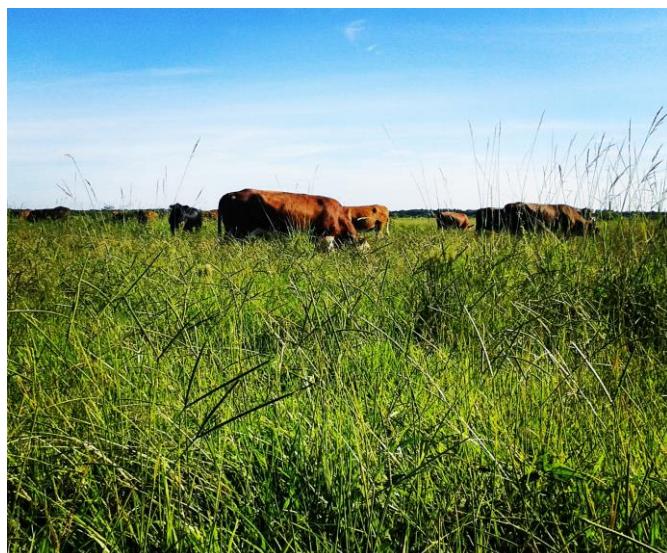
La PTSS presentó una variabilidad morfo-agronómica similar a la encontrada en los GTSE y los GTAN, lo que demuestra que se logró transferir la variabilidad natural existente en los GTAN hacia el germoplasma sexual, presentando incluso nuevas combinaciones de caracteres potencialmente útiles en mejoramiento genético.

La producción de semillas en polinización abierta de la PTSS fue significativamente superior y de menor variabilidad que la obtenida en autopolinización en todos los años de evaluación. En el año 2016, la producción de semillas de los GDS en polinización abierta fue significativamente superior a la observada en los GTSE. La PTSS no mostró diferencias significativas con respecto a los anteriores. No se registraron diferencias significativas en autopolinización entre los tres grupos de plantas.

La PTSS mostró una fuerte tendencia a la alogamia, siendo su producción de semillas en polinización abierta y en autopolinización semejante a la registrada en los GTSE y los GDS, mostrando amplias variaciones atribuibles a su origen genético diverso.

## INTRODUCCIÓN

El género *Paspalum* es un miembro importante de la tribu Paniceae (Poaceae), incluyendo alrededor de 310 especies (Morrone et al., 2012), la mayoría de las cuales son nativas de las regiones tropicales y subtropicales del continente americano (Cidade et al., 2013). *Paspalum notatum* Flüggé es una gramínea rizomatosa perenne, nativa de los pastizales tropicales y subtropicales de América, presentando una amplia distribución geográfica que se extiende desde el sur de México hasta el centro de Argentina (Gates, 2004). En ésta región es parte importante de los ecosistemas pastoriles naturales, representando un componente muy importante de la oferta forrajera de los mismos (Figura 1). Los atributos de la especie como forrajera la llevaron a ser una de las gramíneas forrajeras perennes más cultivadas del sudeste de Estados Unidos (Burton, 1955; Blount y Acuña, 2009), utilizándose además en otras partes del mundo, como Australia y Japón. Debido a su crecimiento cespitoso de buena cobertura es usado además como césped y como fijadora de suelos, con la finalidad de minimizar el efecto de agentes erosivos.



**Figura 1.** Pradera natural de *Paspalum notatum*, en Pampa Almirón, Chaco, Argentina.

*Paspalum notatum* es una especie multiploide, habiéndose descripto citotipos diploides ( $2n=2x=20$ ) de reproducción sexual y alógamos por autoincompatibilidad (Burton, 1955); tetraploides ( $2n=4x=40$ ) que se reproducen por apomixis apospórica pseudógama (Burton, 1948); y citotipos triploides ( $2n=3x=30$ ) y pentaploides ( $2n=5x=50$ ) de reproducción apomictica que son encontrados en escasas oportunidades (Gould, 1966; Quarin et al., 1989; Tischler y Burson, 1995). El citotipo tetraploide es el

predominante y se lo encuentra en toda la distribución geográfica de la especie; mientras que el citotipo diploide (conocido como *Paspalum notatum* var. *saurae*) se restringe a una acotada área del litoral argentino (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa de distribución geográfica de *P. notatum*. En rojo se muestra el área de distribución del citotipo diploide ( $2n=2x=20$ ) y en celeste la del citotipo tetraploide ( $2n=4x=40$ ). Adaptado de Daurelio et al. (2004).

Los genotipos tetraploides apomícticos producen polen viable; sin embargo, debido a que se reproducen por apomixis sus semillas son de tipo clonal, siendo esto un obstáculo para la recombinación genética. Cruzamientos entre genotipos tetraploides apomícticos y diploides sexuales producen muy pocas semillas, debido a desbalances cromosómicos en la formación del endospermo (Quarin, 1999; Acuña y Blount, 2007), y en general se forman triploides de escasa fertilidad (Quarin, 1999).

A partir del uso de agentes antimitóticos se han generado plantas tetraploides sexuales experimentales por duplicación cromosómica de los diploides (Forbes y Burton, 1961; Quarin et al., 2001; Quesenberry et al., 2010), lo que ha permitido el cruzamiento entre individuos sexuales y apomícticos con igual nivel de ploidía. Sin embargo, la obtención de estos genotipos no es una tarea sencilla, ya que implica la manipulación de sustancias nocivas para la salud y en algunos casos se generan genotipos apomícticos facultativos (Quarin et al., 2001). Debido a ello, la disponibilidad de germoplasma tetraploide sexual de *P. notatum* es muy escasa, siendo además de base genética muy estrecha y de escaso vigor y fertilidad, haciéndolos insuficientes para encarar un programa de mejoramiento de la especie.

En un trabajo reciente se generaron 10 familias F<sub>1</sub>s, mediante el cruzamiento de 10 progenitores paternos apomícticos naturales y 3 madres tetraploides sexuales experimentales. Luego de una clasificación de la descendencia por su modo de reproducción, 29 híbridos sexuales originarios de las distintas familias F<sub>1</sub> fueron intercruzados dando origen a una población tetraploide sintética sexual (Zilli et al., 2013). La utilidad de esta población para el mejoramiento de la especie depende de su fertilidad y del grado de diversidad genética presente, siendo entonces de gran interés su determinación.

El conocimiento de la diversidad genética, así como de las relaciones existentes en el género *Paspalum*, es importante en la conservación de germoplasma y la planificación de estrategias de mejoramiento (Cidade et al., 2008). La amplitud de la diversidad genética existente se puede evaluar partir del uso de marcadores morfológicos, los cuales presentan algunas desventajas como ser: su escaso número, el hecho de estar influenciadas por factores ambientales (Cidade et al., 2013), su limitada variación entre materiales muy relacionados genéticamente (Tomas et al., 2013), y que su determinación muchas veces requiere que las plantas se encuentren en estados de desarrollo avanzado, lo que implica un mayor tiempo para su determinación (Azofeifa-Delgado, 2006). Sin embargo, estos marcadores son capaces de brindar información de gran utilidad para la identificación y selección de genotipos superiores, siendo además su medición sencilla y económica, lo que los convertiría en marcadores adecuados para determinar la variabilidad genética de aquellos germoplasmas destinados al mejoramiento genético (Cidade et al., 2013).

La evaluación de características morfológicas de individuos de *P. notatum* demostró ser de utilidad para diferenciar los diferentes tipos botánicos de la especie: la forma típica tetraploide, comúnmente descripta como de hojas anchas, rizomas gruesos, entrenudos cortos, pocas inflorescencias y espiguillas largas; y la forma diploide (var. *saurae*) de hojas largas y estrechas, entrenudos más largos, mayor altura y con espiguillas más pequeñas que las presentes en individuos tetraploides (Blount y Acuña, 2009). En un estudio sobre colecciones de germoplasma de *P. notatum* de Brasil se pudo observar una enorme variabilidad morfológica, lo cual tornó difícil la división en grupos que compartan ciertos caracteres, debido al amplio solapamiento entre los mismos para la mayoría de las variables evaluadas (Cidade et al., 2009).

De acuerdo a Bórem et al. (2008), el conocimiento del modo de reproducción de una especie es de gran utilidad para el entendimiento del sistema genético y para la

elección del método de mejoramiento a utilizar. Acuña et al. (2007) mencionaron 5 características que son necesarias de reunir en un individuo de *P. notatum* para ser utilizado como progenitor femenino en cruzamientos con genotipos apomícticos: i) igual nivel de ploidía, ii) alto nivel de expresividad de la sexualidad, iii) alto vigor, iv) razonable fertilidad en polinización cruzada y v) una importante auto-esterilidad. Las características mencionadas se deberían tener en cuenta como objetivos en la generación de germoplasma sexual de la especie, para llevar adelante programas de mejoramiento genético de una forma más eficiente. Debido a la gran variabilidad existente en *P. notatum* en cuanto a fertilidad, es de gran importancia su caracterización y cuantificación en el germoplasma tetraploide sintético sexual para su uso en programas de mejoramiento.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO

- La variabilidad morfo-agronómica de la población tetraploide sintética sexual de *Paspalum notatum* es superior a la existente en los genotipos tetraploidos apomícticos naturales y tetraploidos sexuales experimentales, a partir de las cuales ésta se originó.
- La población tetraploide sintética sexual se comporta como alógama, variando el grado de auto-fertilidad en función de los genotipos evaluados.
- La fertilidad de la población tetraploide sintética sexual es similar a la observada en los genotipos diploides sexuales y los tetraploidos sexuales experimentales.

## **OBJETIVOS**

### **General:**

- Caracterizar una población tetraploide sintética sexual de *Paspalum notatum* a partir de su variabilidad morfológica, agronómica y de su fertilidad.

### **Específicos:**

- Evaluar diferentes caracteres morfológicos y agronómicos en una población tetraploide sintética sexual de *P. notatum*.
- Medir la fertilidad de la población tetraploide sintética sexual de *P. notatum*, a través de la producción de semillas en condiciones de autopolinización forzada y polinización abierta, y también la de genotipos diploides y tetraploides sexuales experimentales de la misma especie.
- Comparar la fertilidad de la población tetraploide sintética sexual de *P. notatum* con la medida en genotipos diploides y tetraploides sexuales experimentales de la misma especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Material vegetal:**

En la Tabla 1 se puede encontrar el origen, nivel de ploidía y modo de reproducción de los genotipos utilizados en esta tesina.

**Tabla 1.** Identificación, nivel de ploidía, modo de reproducción y origen del material vegetal utilizado en este estudio.

<b>Genotipo o Población</b>	<b>Nivel de ploidía</b>	<b>Modo de reproducción</b>	<b>Origen</b>
Hoj 398#9	Diploide	Sexual	Empedrado, Corrientes, Argentina.
Tifton 9	Diploide	Sexual	Cultivar desarrollado en Georgia Coastal Plain Experimental Station. USA.
C4-4x	Tetraploide	Sexual	Obtenido experimentalmente por duplicación cromosómica de un individuo diploide colectado en Cayastá, Santa Fe, Argentina (Quarin et al., 2001).
SWSB	Tetraploide	Sexual	Híbrido entre un genotipo tetraploide sexual experimental y un apomíctico natural de estigmas blancos (Burton y Forbes, 1960).
Q4205	Tetraploide	Sexual	Obtenido por autofecundación del SWSB (Quarin et al., 2003).
C&A1556	Tetraploide	Apomíctico	Ruta 35, Km 364, cerca de Fortín Olavarría, Bs. As., Argentina.
Q3838	Tetraploide	Apomíctico	Riachuelo, Corrientes, Argentina.
V14327	Tetraploide	Apomíctico	Capivari, Sao Paulo, Brasil.
Q3775	Tetraploide	Apomíctico	Tamaulipas, México.
Q4064	Tetraploide	Apomíctico	Saladas, Corrientes, Argentina.
SV2893	Tetraploide	Apomíctico	El Huayo, Dpto. de Cajamarca, Prov. de Cajabamba, Perú.
Q3776	Tetraploide	Apomíctico	Villa Tunari, región del Chapare, Bolivia.
Q4294	Tetraploide	Apomíctico	Los Algarrobos, Santa Rosa de Calamuchita, Córdoba, Argentina.
B229	Tetraploide	Apomíctico	Itaquí, Río grande do Sul, Brasil
TB86	Tetraploide	Apomíctico	Ruta 26, Km 389, Dpto. de Cerro Largo, Uruguay.
PTSS	Tetraploide	Sexual	Población tetraploide sintética sexual generada a partir del intercruzamiento entre 29 F <sub>1</sub> s sexuales proveniente de 10 familias originadas por hibridación entre 3 genotipos tetraploides sexuales experimentales y 10 genotipos tetraploides apomícticos naturales.

Para la estimación de la variabilidad morfológica y agronómica el material vegetal utilizado consistió en una muestra de 140 plantas de la población tetraploide sintética sexual (PTSS) de *P. notatum*, 10 genotipos tetraploides apomícticos naturales (GTAN) y 3 genotipos tetraploides sexuales experimentales (GTSE), los cuales fueron usados como parentales masculinos y femeninos respectivamente en los cruzamientos que dieron origen a las F<sub>1</sub>s sexuales que después fueron intercruzadas para finalmente originar la PTSS.

Para el estudio de la fertilidad se utilizó una muestra representativa de la variabilidad fenotípica de la PTSS, los tres GTSE y además 2 genotipos diploides sexuales (GDS).

Se realizó una multiplicación clonal a partir de rizomas de cada planta. Los rizomas fueron puestos a enraizar en sustrato en bandejas de siembra individual. Al cabo de 30 días las plantas fueron llevadas a un predio del Campo Didáctico y Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE bajo un marco de plantación de 1 x 1 m con sus correspondientes borduras (Figura 3).



**Figura 3.** Material vegetal establecido en el Campo Didáctico Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE.

## **Análisis Morfológicos y Agronómicos:**

Debido a la heterogeneidad del terreno el diseño experimental escogido para la medición de los caracteres morfo-agronómicos fue en bloques completos al azar, con 3 repeticiones.

### **Caracteres morfológicos:**

- **Altura de planta (AP):** medida (cm) desde el suelo hasta el tope del canopeo.
- **Diámetro de planta:** valor medio (cm) del mayor y menor diámetro de la mata.
- **Ancho de hoja (AH):** ancho (mm) de la parte media de la hoja (valor medio de 2 hojas).
- **Largo de hoja (LH):** longitud (cm) de la lámina foliar de la primera hoja totalmente expandida (valor medio de 2 hojas).
- **Altura del eje floral (AEF):** altura (cm) desde el suelo hasta la inserción del primer racimo (valor medio de 2 inflorescencias).
- **Largo de racimos (LR):** longitud (cm) promedio de dos racimos de distintas inflorescencias.

Las mediciones fueron realizadas el día 1 de mayo del 2016.

### **Caracteres agronómicos:**

- **Producción de biomasa (PB):** se realizó mediante corte, pesada y transformación a materia seca. Fue realizada el 25 de mayo del 2016, al final de la estación de crecimiento.
- **Tolerancia al frío (TF):** se utilizó una escala discreta del 1 al 5, donde 1 es la que exhibe mayor daño por frío y 5 la mayor tolerancia. Fue medida el 10 de julio de 2016, dos días después de la primera helada del año.
- **Crecimiento invernal (CI):** Se usó una escala discreta del 1 al 5, donde 1 es la planta de menor crecimiento y 5 la de mayor. Fue medido el día 23 de septiembre del 2016, a fines del invierno.
- **Vigor de crecimiento (VC):** se utilizó una escala discreta del 1 al 5, donde 1 es la planta menos vigorosa y 5 la de mayor vigor. El valor fue tomado el 24 de mayo de 2016.

### **Análisis de la fertilidad:**

Se evaluó en base a los datos de producción de semillas bajo condiciones de autopolinización forzada y polinización abierta, sobre una muestra representativa de la variabilidad fenotípica de la PTSS compuesta entre 29 y 31 individuos. Durante los años 2014 y 2015 las mediciones fueron realizadas sobre la parcela original instalada en el predio de campus de la FCA-UNNE. En el año 2016, se realizaron las mismas mediciones sobre una muestra de 30 individuos de la PTSS, 3 GTSE y 2 GDS instaladas en el predio del Campo Didáctico y Experimental de la FCA-UNNE.

El procedimiento utilizado en autopolinización consistió en ensobrar de 3 a 4 inflorescencias por planta (antes de que se produzca la antesis de las espiguillas) manteniéndolas ensobradas por 30 días hasta la maduración de las mismas (Figura 4). En polinización abierta se procedió a seleccionar de 3 a 4 inflorescencias por planta, dejándolas en polinización libre hasta finalizada la floración, para luego ensobrarse por 30 días hasta la maduración de los cariópsides.



**Figura 4.** Evaluación de la fertilidad en autopolinización de uno de los individuos de la PTSS.

Una vez transcurrido el tiempo de maduración, se llevó a cabo la cosecha de las inflorescencias y posteriormente la trilla de las espiguillas. Se separaron las espiguillas llenas (con semillas) de las vacías (sin semillas) utilizando un aparato soplador de semillas Seedburo Equipment Company® 1022W, el cual las separa por diferencia de peso. Luego, se realizó el recuento de las espiguillas con semillas sobre el total, obteniéndose a partir de éstos datos los porcentajes de producción de semillas.

### **Análisis estadístico:**

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó a partir del uso del programa Info-Stat (Balzarini y Di Renzo, 2004). Se calcularon medias y coeficientes de variación, realizándose comparaciones de dos medias por pruebas de LSD de Fisher y de más de dos medias mediante pruebas de Duncan con significancia al 5%. En aquellas variables que no presentaron una distribución normal se utilizó la prueba no paramétrica de comparación de Kruskal-Wallis con significancia al 5%. Se llevó a cabo un análisis de Componentes Principales de aquellas variables de distribución normal con el objeto de evaluar la distribución de los genotipos y detectar posibles agrupamientos entre las variables estudiadas. Adicionalmente, se determinaron las correlaciones existentes entre caracteres a partir del coeficiente de correlación de Spearman.

## RESULTADOS

### **Caracterización morfológica y agronómica de la PTSS**

#### Valores medios:

Los valores medios observados para cada una de las variables morfo-agronómicas evaluadas se encuentran descriptos en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Valores medios obtenidos para cada una de las variables morfo-agronómicas analizadas en los diferentes grupos de genotipos de *P. notatum*.

Variable	PTSS	GTAN	GTSE
Altura de planta (cm)	44,8 <sup>a†</sup>	33,4 <sup>b</sup>	39,1 <sup>ab</sup>
Diámetro de planta (cm)	22,6 <sup>b</sup>	33,5 <sup>a</sup>	25,3 <sup>b</sup>
Largo de hoja (cm)	32,4 <sup>a</sup>	27,4 <sup>b</sup>	27,2 <sup>b</sup>
Ancho de hoja (mm)	8,5 <sup>a</sup>	8,6 <sup>a</sup>	7,5 <sup>b</sup>
A.E.F. (cm)	59,8 <sup>a</sup>	58,4 <sup>ab</sup>	51,9 <sup>b</sup>
Largo de racimos (cm)	12,9 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>
Biomasa (g MS)	195,5 <sup>a</sup>	164,8 <sup>a</sup>	152,8 <sup>a</sup>
Vigor (1-5) <sup>‡</sup>	3,3 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>
Crec. invernal (1-5) <sup>‡</sup>	2,8 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>
Tolerancia al frío (1-5) <sup>‡</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,5 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>

† Medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para la prueba de Duncan (0,05) dentro de una misma fila.

‡ Variables no paramétricas en las cuales las medias seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para la prueba de Kruskal-Wallis (0,05) dentro de una misma fila

Los resultados de los valores medios observados para las variables morfológicas vegetativas fueron los siguientes:

**Altura de planta (AP):** La PTSS mostró una media de 44,8 cm, siendo significativamente superior a la de 33,4 cm observados en los GTAN. Los GTSE presentaron una media de 39,1 cm, sin mostrar diferencias significativas con los otros dos grupos de plantas.

**Diámetro de planta (DP):** Los GTAN presentaron una media de 33,5 cm, significativamente superior a las observadas en los GTSE y la PTSS, de 22,3 y 22,6 respectivamente; sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre estos genotipos.

Se calculó la relación altura/diámetro de los grupos de plantas en estudio a partir del cociente de sus alturas y diámetros medios. Ésta relación arrojó para la PTSS un valor de 1,98, siendo de 1,55 y 1 para los GTSE y GTAN respectivamente.

**Largo de hoja (LH):** La PTSS mostró una media de 32,4 cm significativamente superior a 27,2 cm y 27,4 cm observadas en los GTSE y GTAN, respectivamente, las cuales a su vez no mostraron diferencias significativas entre sí.

**Ancho de hoja (AH):** Los valores medios superiores fueron observados en los GTAN con 8,6 mm y la PTSS con 8,5 mm, los cuales no resultaron estadísticamente diferentes entre sí, pero sí con respecto a los GTSE que tuvieron una media de 7,5 mm.

Por su parte, los resultados de las variables morfológicas reproductivas fueron los siguientes:

**Altura del eje floral (AEF):** Los individuos de la PTSS mostraron una media de 59,8 cm, la cual es significativamente superior a la de 51,9 cm correspondiente a los GTSE. La media de los GTAN para dicha variable fue de 58,4 cm, no mostrando diferencias estadísticamente significativas con las de los demás grupos de plantas.

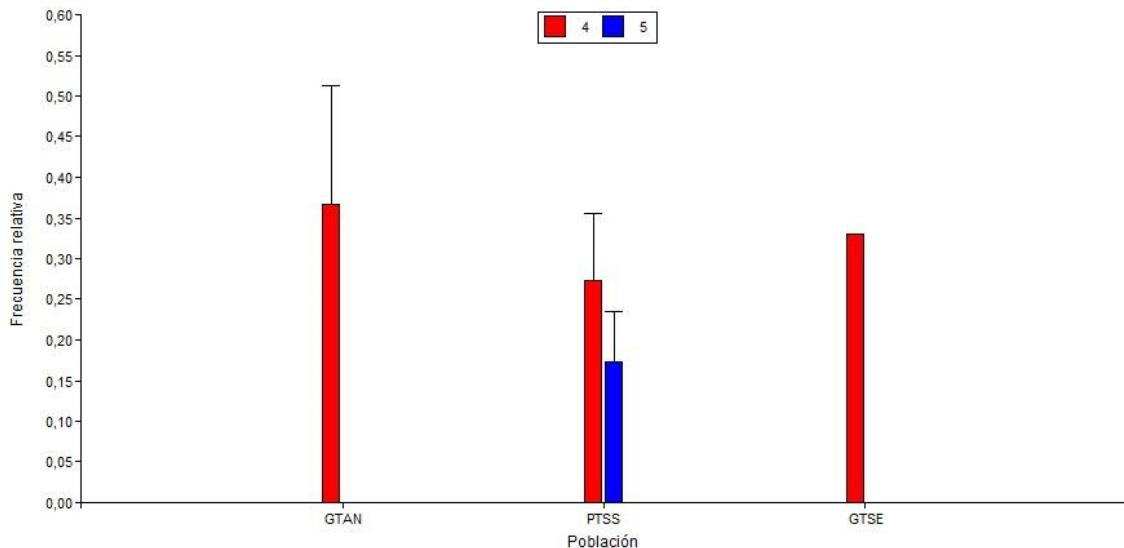
**Longitud de racimos (LR):** no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de plantas, siendo las medias registradas de 12,9 cm, 12,8 cm y 12,6 cm para la PTSS, GTAN y GTSE, respectivamente.

Con respecto a las variables agronómicas, los resultados observados fueron los siguientes:

**Producción de biomasa (PB):** El valor medio observado en la PTSS fue de 195,5 g; mientras que en los GTSE y GTAN se observaron valores medios de 152,8 g y 164,8 g, respectivamente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos.

**Vigor de crecimiento (VC):** El valor observado en la PTSS indica que la mayoría de los individuos presenta valores en torno a 3, no observándose diferencias de significancia estadística con los GTAN y los GTSE.

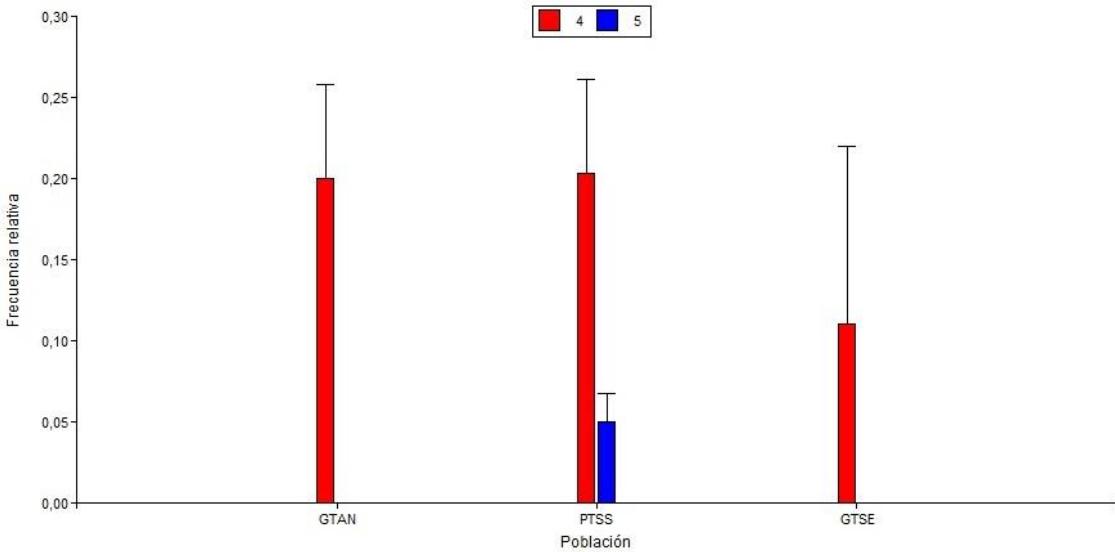
Para el carácter vigor de crecimiento, el 33% de los GTSE y el 37% de los GTAN presentaron un valor de 4 en la escala asumida, mientras que el 44% de los individuos de la PTSS mostraron un vigor correspondiente a valores de 4 y 5 (Figura 5).



**Figura 5.** Frecuencias relativas observadas para los niveles 4 y 5 del carácter vigor de crecimiento en la PTSS, los GTSE y los GTAN.

**Crecimiento invernal (CI):** La PTSS para éste carácter mostró también valores en su mayoría cercanos a 3, no observándose diferencias estadísticas significativas entre los tres grupos de plantas estudiados.

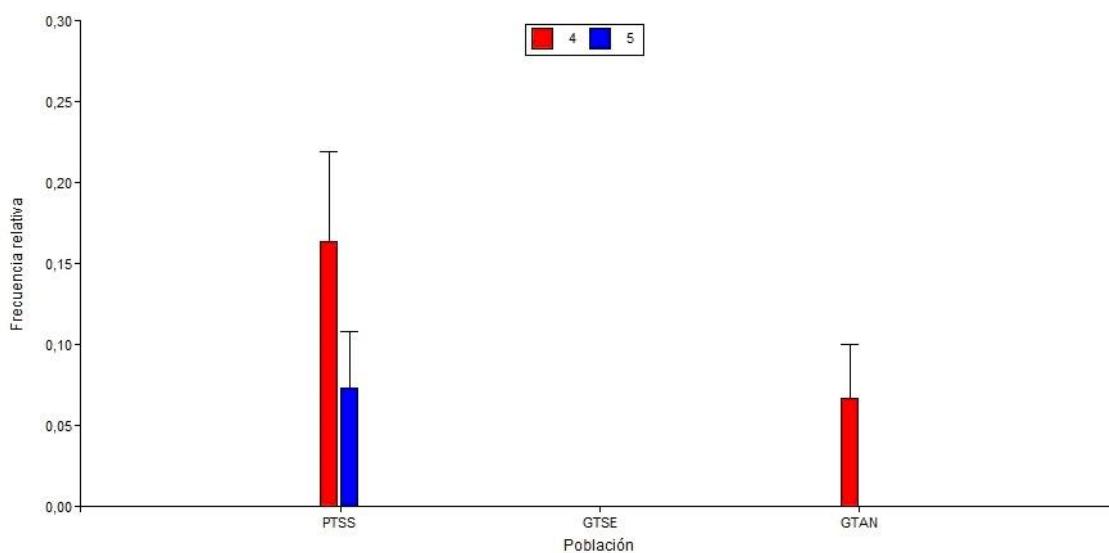
El 25% de los individuos de la PTSS mostró un crecimiento invernal de un nivel igual o mayor a 4. Los GTAN y los GTSE presentaron para el citado carácter un 20% y un 11% de individuos de nivel 4, respectivamente (Figura 6).



**Figura 6.** Frecuencias relativas observadas para los niveles 4 y 5 del carácter crecimiento invernal en la PTSS, los GTSE y los GTAN.

**Tolerancia al frío (TF):** El valor observado en la PTSS indica que los valores de la mayoría de sus individuos oscilan en torno a 3, no mostrando diferencias significativas con los GTSE y los GTAN.

En la PTSS el 24% de los individuos presentó un nivel de tolerancia al frío igual o mayor a 4, observándose en los GTAN apenas un 7% de los individuos con un nivel de tolerancia al frío de 4. No se observaron en los GTSE individuos destacados para este carácter (Figura 7).



**Figura 7.** Frecuencias relativas observadas para los niveles 4 y 5 del carácter tolerancia al frío en la PTSS, los GTSE y los GTAN.

#### Coeficientes de variación:

Los valores registrados para cada carácter en los diferentes grupos de plantas estudiados y sus medias están explicitados en la Tabla 3. Para los caracteres morfológicos es destacable que el coeficiente de variación medio registrado para el carácter altura de planta es del 35%, mientras que el de los caracteres diámetro de planta y largo de hojas fue de 26,7 y 25,6, respectivamente. El coeficiente de variación medio para la variable ancho de hoja fue de 14,9%. En las variables morfológicas reproductivas se registraron coeficientes de variación medios de 22,1% y de 18,8% para los caracteres altura del eje floral y longitud de racimos, de forma respectiva. El coeficiente de variación medio para la variable producción de biomasa es de 81,8%, siendo el de la variable crecimiento invernal de 38,2%. Para el carácter tolerancia al frío el coeficiente de variación medio es de 38,2%, y para el vigor de plantas es de 35,1%. En el caso de las últimas tres variables citadas se utilizaron los coeficientes de variación

como indicadores orientativos de la variabilidad presentada por ellos, teniendo en cuenta sus limitaciones al no contar las variables mencionadas con una distribución normal.

**Tabla 3.** Coeficientes de variación porcentuales de cada variable analizada para cada grupo de genotipos.

Variable	PTSS	GTAN	GTSE	Media
Altura de planta	23,7	32	49,3	35
Diámetro de planta	29,8	17,6	32,6	26,7
Largo de hoja	23	23	30,7	25,6
Ancho de hoja	14,2	15	15,6	14,9
Altura del eje floral	16,6	16,6	33,1	22,1
Longitud de racimos	16,4	21,7	18,3	18,8
Biomasa	67,9	77,7	99,7	81,8
Vigor	34,3	25	45,9	35,1
Crecimiento invernal	37,6	37,3	39,7	38,2
Tolerancia al frío	44	29,2	41,4	38,2

#### Análisis de Componentes Principales:

Para observar el agrupamiento de los individuos correspondientes a cada uno de los grupos de genotipos estudiados se utilizó el análisis de componentes principales. El 73% de la variabilidad total fue explicada por los dos primeros componentes principales (CP1:55% y CP2:18%) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis de componentes principales. Los autovalores corresponden a las variables morfo-agronómicas analizadas.

Lambda	Valor	Proporción	Proporción acumulada
1	3,83	0,55	0,55
2	1,25	0,18	0,73
3	0,71	0,10	0,83
4	0,50	0,07	0,90
5	0,28	0,04	0,94
6	0,25	0,04	0,97
7	0,24	0,03	1

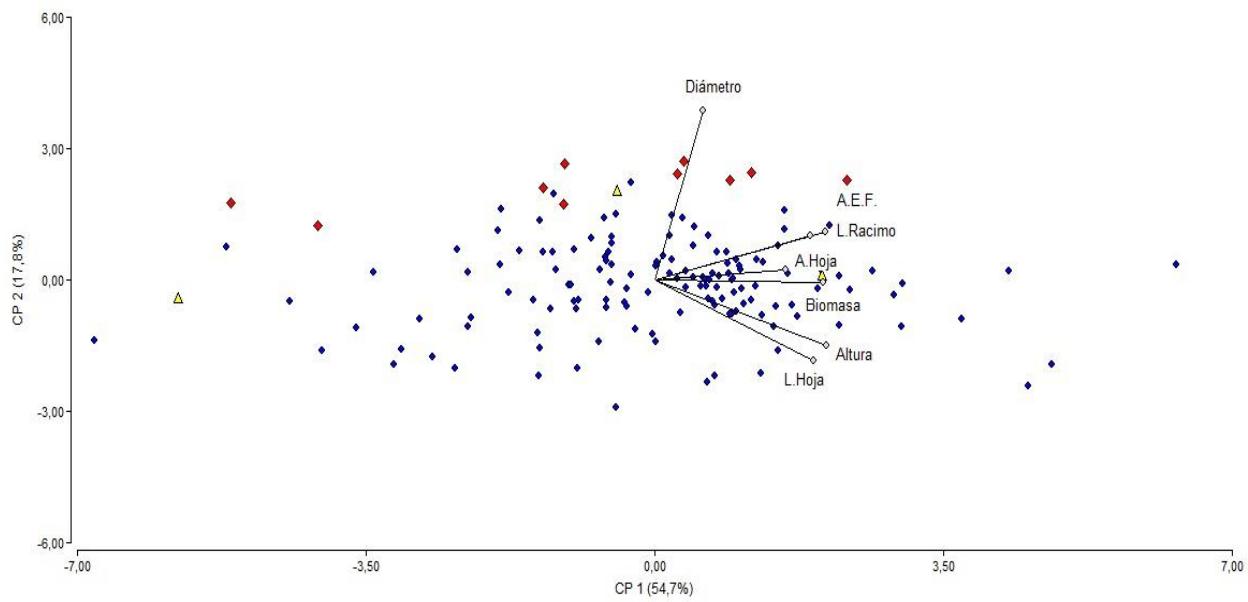
Los autovectores generados nos indican que las variables altura de planta, ancho de hoja, altura del eje floral, largo de racimos y producción de biomasa se hallan más relacionadas a la CP1, mientras que la variable diámetro de planta está más relacionada a la CP2. La variable morfológica longitud de hoja está relacionada prácticamente por igual a ambas componentes (Tabla 5).

**Tabla 5.** Análisis de componentes principales. Autovectores generados a partir de las variables morfo-agronómicas en estudio.

Variables	e1	e2
Altura	0,43	-0,32
Diámetro	0,12	0,81
Largo de hoja	0,40	-0,38
Ancho de hoja	0,33	0,05
Altura del eje floral	0,43	0,23
Largo de racimos	0,39	0,21
Biomasa	0,43	-0,01

En la Figura 6 se aprecia que los GTSE muestran una importante dispersión, sin seguir un patrón aparente. Los GTAN se ubican hacia el sector positivo de la CP2, caracterizados por un mayor diámetro de planta; sin embargo, se encuentran relativamente dispersos sobre la CP1, indicando una mayor variabilidad para los

caracteres explicados por esta componente. En cuanto a los genotipos de la PTSS se puede observar una importante dispersión en ambas CP, y sobre todo a lo largo de la CP1, la cual explica la mayor variabilidad. En general, la dispersión registrada para los GTAN y los GTSE es inferior a la visualizada en la PTSS (Figura 8). Esto evidencia la gran variabilidad existente en la PTSS para los caracteres morfo-agronómicos evaluados.



**Figura 8.** Componentes principales generadas a partir del análisis de los caracteres morfo-agronómicos en estudio. Azul: PTSS. Amarillo: GTSE. Rojo: GTAN.

A partir de la observación de los vectores proyectados por cada variable, en el análisis de componentes principales, se pueden apreciar las correlaciones existentes entre cada una de ellas. Un análisis más minucioso de estas correlaciones se puede observar en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Matriz de coeficientes de correlación de Spearman (inferior izquierda) y p-valores (superior derecha) para las variables morfo-agronómicas evaluadas.

	AP	DP	LH	AH	AEF	LR	PB	TF	CI	VC
AP	1	0,53	**	**	**	**	**	**	**	**
DP	0,03	1	0,83	0,11	**	**	**	0,68	**	**
LH	0,61	0,01	1	**	**	**	**	**	**	**
AH	0,31	0,08	0,29	1	**	**	**	**	**	**
AEF	0,59	0,31	0,38	0,30	1	**	**	**	**	**
LR	0,40	0,23	0,34	0,38	0,56	1	**	**	**	**
PB	0,61	0,32	0,48	0,27	0,51	0,38	1	**	**	**
TF	0,29	0,02	0,27	0,19	0,18	0,14	0,64	1	**	**
CI	0,56	0,15	0,45	0,25	0,44	0,35	0,80	0,72	1	**
VC	0,64	0,22	0,50	0,28	0,49	0,37	0,88	0,60	0,8	1

\*\* p-valor < 0,01.

AP: Altura de planta. DP: Diámetro de planta. LH: Largo de hojas. AH: Ancho de hojas. AEF: Altura del eje floral. LR: Longitud de racimos. PB: Producción de biomasa. TF: Tolerancia al frío. CI: Crecimiento invernal. VC: Vigor de crecimiento.

En primer lugar se puede ver que no se observaron correlaciones negativas entre las diferentes variables analizadas, por lo que se podría seleccionar individuos por cualquiera de los caracteres mencionados sin presentarse repercusiones negativas en ninguno de los otros. Se destacan las correlaciones positivas existentes entre la altura de planta y los caracteres agronómicos producción de biomasa (PB) y vigor de crecimiento (VC), cuyos coeficientes de correlación son de 0,61 y 0,64, respectivamente. A su vez, la correlación entre VC por estimación visual y PB presenta un coeficiente de correlación de 0,88; lo que indica en éste caso que una sencilla estimación visual nos arrojaría un ranking fenotípico similar al obtenido con una medición por corte y pesaje. El vigor de crecimiento también está fuertemente correlacionado con el crecimiento invernal (CI), siendo su coeficiente de correlación de 0,8; destacándose que las plantas que produjeron mucho en la estación de crecimiento, también tienden a hacerlo durante el invierno. En términos generales, todos los caracteres agronómicos presentaron una alta correlación entre sí, lo que representaría una importante ventaja en el mejoramiento de este germoplasma.

Las variables morfológicas vegetativas y reproductivas están algo menos correlacionadas entre sí que las agronómicas, visualizándose de igual forma una

correlación positiva entre la altura de plantas (AP) con largo de hoja (LH) y altura del eje floral (AEF), con coeficientes de correlación de 0,61 y 0,59, respectivamente. También es notoria la correlación entre la AEF y longitud de los racimos (LR), siendo su coeficiente de correlación de 0,56; configurando así plantas de forma regular y armónica.

### **Producción de semillas de la PTSS**

La producción de semillas en autopolinización mostró un valor medio de 8,2%, 20,5% y 16,6% para los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente. Por su parte, se observó un coeficiente de variación en la producción de semillas por autopolinización de 86,8%, 61,1% y 65,4% para los años 2014, 2015 y 2016 respectivamente (Tabla 7).

La producción de semillas bajo polinización abierta fue de 22,6%, 28% y 39,3%, para los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente. Por su parte, el coeficiente de variación para la producción de semillas por éste método arrojó valores de 70,5, 31,2% y 60,7% para los años 2014, 2015 y 2016, respectivamente (Tabla 7).

**Tabla 7.** Producción de semillas en autopolinización y polinización abierta en la PTSS. Valores medios, mínimos, máximos y coeficientes de variación registrados durante los años 2014, 2015 y 2016.

Año	Método de polinización	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	C.V.
2014	Autopolinización	8,2	0	25,2	86,8
	Polinización abierta	22,6	0	60,9	70,5
2015	Autopolinización	20,5	2,6	63,5	61,1
	Polinización abierta	39,3	13,4	69	31,2
2016	Autopolinización	16,6	0	39,2	65,4
	Polinización abierta	28	2,8	58	60,7

En la Tabla 8 se observa el análisis estadístico de comparación de medias según el método de polinización y año de evaluación.

**Tabla 8.** Porcentajes medios de producción de semillas en la PTSS según su sistema de polinización y año de evaluación.

Año	Producción de semillas (%)		DMS <sup>†</sup>
	Autopolinización	Polinización abierta	
2014	8,2 <sup>b‡</sup>	22,6 <sup>b</sup>	6,4
2015	20,5 <sup>a</sup>	39,3 <sup>a</sup>	6,3
2016	16,6 <sup>a</sup>	28 <sup>b</sup>	7,3

† DMS: diferencias mínimas significativas para comparaciones en una misma fila.

‡ Medias seguidas por letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para el test de Duncan (0,05) en la misma columna.

En todos los años evaluados, la producción de semillas en polinización abierta fue significativamente superior a la observada en autopolinización (Tabla 8). Sin embargo, se encontró una fuerte correlación entre la producción de semillas en polinización abierta y autopolinización ( $r=0,68$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ) para los tres años de evaluación.

### **Comparación de la fertilidad entre GDS, GTSE y la PTSS**

En el año 2016, la producción de semillas en autopolinización de los GDS fue de 16,8%; mientras que para GTSE y PTSS fue de 9,9% y 16,6, respectivamente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de plantas (Tabla 9). El coeficiente de variación observado para los GDS, GTSE y la PTSS fue de 65,4%, 58% y 65,4%, respectivamente (Tabla 9).

**Tabla 9.** Producción de semillas en autopolinización de los GDS y GTSE, y su comparación con los observados previamente en la PTSS. Valores medios y coeficiente de variación obtenidos de mediciones realizadas en el año 2016.

Población	Método de polinización	Media (%)	C.V.
GDS	Autopolinización	16,8 <sup>a†</sup>	65,4
GTSE	Autopolinización	9,9 <sup>a</sup>	58
PTSS	Autopolinización	16,6 <sup>a</sup>	65,4

† Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas según prueba de Duncan (0,05).

En polinización abierta, los valores medios de producción de semillas para los GDS, GTSE y PTSS fueron de 51,4%, 22,5% y 28%, respectivamente. El valor medio

de los GDS fue el más alto y mostró diferencias significativas con respecto a los GTSE (Tabla 19).

Los coeficientes de variación registrados para los GDS, GTSE y PTSS fueron de 21,6%, 41% y 60,7%, respectivamente (Tabla 10). La mayor variabilidad se registró en la PTSS.

**Tabla 10.** Porcentajes de producción de semillas, desvíos estándar y coeficientes de variación de las diferentes poblaciones bajo polinización abierta en el año 2016.

Población	Método de polinización	Media (%)	C.V.
GDS	Polinización abierta	51,4 <sup>a†</sup>	21,6
GTSE	Polinización abierta	22,5 <sup>b</sup>	41
PTSS	Polinización abierta	28 <sup>ab</sup>	60,7

† Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para el test de Duncan (0,05).

## **DISCUSIÓN**

El conocimiento de la variabilidad genética es de vital importancia para el planeamiento de estrategias de mejoramiento y conservación de los recursos genéticos (Cidade et al., 2008; Quiroga, 2011); mientras que la determinación de su sistema de reproducción (alogamia, autogamia, o combinaciones entre ellas) es fundamental para establecer los métodos de mejoramiento a adoptar (Borem et al., 2008).

En el presente trabajo se analizó la variabilidad morfo-agronómica de una población tetraploide sintética sexual (PTSS) de *P. notatum*, a partir del uso de marcadores morfo-agronómicos, y se la comparó con la presente en los genotipos tetraploides sexuales experimentales (GTSE) y genotipos tetraploides apomícticos naturales (GTAN) que fueron utilizados como progenitores para la obtención de diferentes familias híbridas, a partir de las cuales se seleccionaron 29 F<sub>1</sub>s sexuales que fueron intercruzados para dar origen a la PTSS. Por otra parte, se analizó la fertilidad de la PTSS, en base a su producción de semillas en autopolinización como en polinización abierta, la cual fue comparada con la fertilidad registrada en los genotipos diploides sexuales (GDS) y los genotipos tetraploides sexuales experimentales (GTSE).

### **Variabilidad morfo-agronómica:**

Se destaca en el análisis de los caracteres morfológicos que la altura media de los individuos de la PTSS es significativamente superior a la registrada para los GTAN. La media de los GTSE para dicho carácter no difiere en forma significativa a los valores de los GTAN y la PTSS. Por el contrario, si se tiene en cuenta la variable diámetro de planta la media para dicho carácter en la PTSS es significativamente inferior a las medias para los GTSE y GTAN, las cuales no difieren de forma significativa entre sí.

La relación altura/diámetro presente en los genotipos en estudio permite estimar el hábito de crecimiento de dichos individuos, relacionado éste con la biomasa aérea disponible de la pastura, así como con su persistencia y capacidad colonizante (Acuña et al., 2009; 2011). A menor valor de dicha relación, se incrementa el potencial de persistencia y colonización del individuo, en detrimento de la proporción de forraje aprovechable de la planta (biomasa disponible a una altura mayor a 5 cm.). Conforme a éstos resultados se podría inferir que la PTSS está conformada por individuos de porte más erecto y mayor proporción de biomasa aérea cosechable, aunque probablemente

con una menor facilidad de cubrir el suelo. Por el contrario, los GTAN presentaron un hábito de crecimiento más postrado, y los GTSE contaron con características intermedias entre ambos grupos de plantas.

Acuña et al. (2009) reportaron que los caracteres morfológicos de importancia agronómica tales como la altura y el diámetro de planta, como también el rebrote invernal y la resistencia al frío, presentan una heredabilidad en sentido amplio de intermedia a alta (superior en todos los casos a 0,65), lo que indicaría que la selección a partir de éstos caracteres puede ser usada eficientemente en el mejoramiento de *P. notatum*.

La longitud de hojas (LH) mostró un valor medio para la PTSS significativamente superior a los GTAN y GTSE; mientras que el ancho de hojas (AH) mostró un valor medio significativamente menor para los GTSE, con respecto a los GTAN y la PTSS, no habiéndose observado diferencias significativas entre ellos. Thaikua et al. (2014) en un estudio sobre 17 grupos de genotipos diferentes del género *Brachiaria* encontró una alta correlación ( $r=0,72$ ) entre la relación ancho/largo de hoja y la digestibilidad in vitro de la materia seca. Esto abre la posibilidad de llevar a cabo la selección de forrajeras según su calidad nutricional, a partir de la selección por caracteres morfológicos de fácil medición, como la longitud y el ancho de hoja.

En el análisis de las variables reproductivas, el carácter longitud de racimos (LR) no mostró diferencias significativas en los diferentes grupos de plantas. Por su parte, para la variable altura del eje floral (AEF), la PTSS mostró una media significativamente superior a la observada en los GTSE, no mostrando diferencias con la media de los GTAN. Cidade et al. (2013) evaluaron 9 caracteres vegetativos y reproductivos sobre un germoplasma de 58 genotipos de *P. notatum* de Brasil, reportando que las variables más informativas para la diferenciación de grupos de genotipos fueron la longitud del racimo, largo y ancho de hoja, y largo y ancho de espiguillas. Estos resultados difieren de los reportados en esta tesis ya que los primeros caracteres mostraron una escasa variabilidad en el germoplasma estudiado, mientras que los dos últimos no fueron medidos en este trabajo.

En las 4 variables agronómicas analizadas no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de plantas en estudio. Sin embargo, se puede ver que los coeficientes de variación fueron en general superiores para los caracteres agronómicos que para los morfológicos vegetativos y reproductivos, por lo que se infiere que la variabilidad presente en los primeros es mayor, en parte probablemente

debida a una mayor influencia de los factores ambientales sobre ésta. En la mayoría de los caracteres evaluados se observaron coeficientes de variación sensiblemente superiores para los GTSE respecto a los GTAN y la PTSS (excepto en las variables longitud de racimos y tolerancia al frío). Esto posiblemente se deba a la elección de los GTSE con características contrastantes para su evaluación; siendo el genotipo SWSB un individuo de origen híbrido selecto por ser vigoroso y productivo; mientras que el genotipo C4-4x es un tetraploide inducido, a partir de la duplicación cromosómica de un diploide, el cual presenta un escaso vigor y producción de biomasa. En tanto, al presentar la PTSS coeficientes de variación semejantes a los observados en los GTAN (siendo éstos incluso levemente superiores en la PTSS para las variables diámetro de planta, vigor de crecimiento, crecimiento invernal y tolerancia al frío) se puede inferir que la variabilidad mostrada por la PTSS para estos caracteres es semejante e incluso algo superior a la observada en los GTAN; indicando que la variabilidad presente en los GTAN fue transferida con éxito a la PTSS.

A partir de las comparaciones de los coeficientes de variación entre grupos de genotipos y para cada variable estudiada se puede ver que la variabilidad morfagrónomica presente en la PTSS es similar a la observada en los GTAN y en los GTSE, sin embargo, al observar el análisis de componentes principales se puede ver una mayor dispersión de los individuos de la PTSS, indicando que numerosos individuos pertenecientes a ésta población presentan nuevas combinaciones de caracteres que serán de potencial utilidad para el mejoramiento de la especie.

### **Fertilidad:**

La producción de semillas de una especie forrajera es de fundamental importancia debido a que puede limitar su comercialización y su adopción por parte de los productores (Jank 2011; Rios et al. 2015).

La producción de semillas en polinización abierta de la PTSS fue muy variable entre genotipos, arrojando una media de 30% para los 3 años de evaluación. Este valor es muy similar al reportado por Burton et al. (1970) para cruzamientos entre genotipos tetraploidios inducidos y por Acuña et al. (2009) para híbridos de primera generación bajo polinización abierta. Los valores de producción de semillas en polinización abierta encontrados en la PTSS se encuentran además dentro de los rangos reportados para otras especies megatérmicas perennes de reproducción sexual como *Brachiaria*

*ruziziensis* (22%), *Setaria sphacelata* (43%) (Parihar y Pathak, 2006), *Chloris gayana* diploide (37%) y tetraploide (30%) (Kokubu y Taira, 1982), por lo que esto no representaría un obstáculo en la multiplicación y adopción del material para fines de mejoramiento. Además, el hecho de haber encontrado una alta variabilidad para el mencionado carácter permitirá la selección de genotipos con altos niveles de fertilidad.

La producción de semillas en autopolinización de la PTSS mostró altas variaciones, con rangos entre 0 y más del 50%, con una media general para los tres años de 15,1%. Este último valor es considerablemente superior al reportado por Burton (1970) y Acuña (2006) de 0,1 y 2% respectivamente, en materiales tetraploides sexuales de origen experimental, encontrándose en ambos trabajos grandes variaciones entre genotipos. En un trabajo posterior de Acuña et al. (2009), se observó que los híbridos sexuales, provenientes de un cruzamiento entre individuos tetraploides apomícticos naturales y tetraploides sexuales inducidos, mostraron una producción de semillas en autopolinización significativamente superior a los parentales tetraploides sexuales inducidos y los genotipos diploides sexuales. Estos resultados indican fuertes variaciones en los niveles de autoincompatibilidad entre los genotipos, hecho que en varios trabajos fue relacionado con los niveles de heterocigosis para los alelos de los genes codificantes para autoincompatibilidad (Lundqvist, 1958; Crowe, 1971; Trang et al., 1982; Devey et al., 1994; Fearon et al., 1994). Esta hipótesis podría explicar los relativamente altos y variables niveles de auto-fertilidad presentes en la PTSS, debido al origen genético diverso de esta población. Esta alta variabilidad en los niveles de fertilidad en autopolinización indicaría que es posible la selección de individuos con bajos niveles de autogamia para su inclusión en los programas de mejoramiento por hibridación, resultando en una mayor eficiencia en la obtención de híbridos, sin la necesidad de realizar emasculación previa del parental femenino durante los cruzamientos controlados. Por otro lado, debido a los casos reportados de depresión por endogamia en el germoplasma sexual de la especie (Burton et al., 1955; Acuña et al., 2009; 2011), la inclusión de individuos con altos niveles de autoincompatibilidad permitiría evitar o reducir dicha depresión.

La alta correlación existente entre la producción de semillas en polinización abierta y autopolinización indica que las plantas más fértiles y de mayor potencial de producción de semillas son también las más auto-fértiles, mostrando una mayor fertilidad para ambos métodos de polinización. Este hecho representa un obstáculo para el mejoramiento, ya que la selección de genotipos por su alta producción de semillas

conllevaría a un incremento en la autogamia en la población seleccionada. Sin embargo, esto podría no ser así ante la posibilidad de que las plantas, al contar con polen foráneo, muestren una mayor tendencia a la alogamia, como fue reportado por Ferrari Usandizaga (2015) para *Acroceras macrum*, otra especie de la tribu *Paniceae*. El hecho de encontrar altos niveles de auto-compatibilidad puede deberse a que las plantas de mayor fertilidad, al no contar con polen foráneo, utilicen su propio polen en lugar de no producir semillas.

Los coeficientes de variación observados para la producción de semillas a lo largo del período estudiado, tanto en autopolinización como en polinización abierta, presentaron sus menores valores en el año 2015. La producción de semillas en polinización abierta presentó menores coeficientes de variación que en autopolinización en los tres años evaluados.

Al comparar la producción de semillas de la PTSS en autopolinización, con respecto a los GDS y GTSE, no se observan diferencias significativas con respecto a los otros dos grupos. Por otro lado, al comparar la producción de semillas bajo polinización abierta, se puede observar que la PTSS no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores observados en los GDS y GTSE, aunque se observó una producción de semillas significativamente superior de los GDS con respecto a los GTSE. Esto demuestra que se logró obtener un nuevo y diverso germoplasma tetraploide sintético sexual para la especie, el cual conserva los niveles de fertilidad observados en los escasos GTSE que le dieron origen, semejando incluso su fertilidad a la del germoplasma diploide sexual de la especie. La variabilidad en la producción de semillas en autopolinización fue semejante para los diferentes grupos de plantas en estudio, mientras que en polinización abierta la PTSS muestra una variabilidad más amplia que la observada en los GDS y en los GTSE, la cual es atribuible a su origen genético diverso.

## CONCLUSIONES

- La variabilidad morfo-agronómica de la población tetraploide sintética sexual de *Paspalum notatum* fue similar a la observada en los genotipos tetraploidados apomícticos naturales y genotipos tetraploidados sexuales experimentales. Esto demuestra que se logró transferir la variabilidad presente en los genotipos apomícticos al germoplasma sexual de la especie.
- La PTSS presenta un comportamiento reproductivo principalmente alógamo, con un grado de autogamia variable dependiendo del genotipo evaluado.
- La fertilidad de la población tetraploide sintética sexual, tanto en autopolinización como en polinización abierta, no presentó diferencias estadísticas con la registrada en los genotipos diploides sexuales y genotipos tetraploidados sexuales experimentales evaluados, estando además su producción de semillas en polinización abierta dentro de los rangos normales para otras gramíneas megatérmicas perennes de reproducción sexual.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, C.A. 2006. Bahiagrass germplasm reproductive characterization, and breeding at the tetraploid level. Tesis para optar al título de Master of Science. University of Florida, USA.
- Acuña, C.A., Blount, A.R., Quesenberry K.H., Hanna, W.W., Kenworthy K.E. 2007. Reproductive Characterization of Bahiagrass Germplasm. *Crop Sci.* 47: 1711–1717.
- Acuña, C.A., Blount, A.R., Quesenberry, K.H., Kenworthy, K.E., Hanna, W.W. 2009. Bahiagrass tetraploid germplasm: reproductive and agronomic characterization of segregating progeny. *Crop Sci.* 49: 581–588.
- Acuña, C.A., Blount, A.R., Quesenberry, K.H., Kenworthy, K.E., Hanna, W.W. 2011. Tetraploid bahiagrass hybrids: breeding technique, genetic variability and proportion of heterotic hybrids. *Euphytica* 179: 227–235.
- Azofeifa-Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía mesoamericana.* 17(2): 221-242.
- Balzarini, M. y J. Di Rienzo (2004) *InfoStat*: Software estadístico. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Blount, A.R., Acuña, C.A. 2009. Bahiagrass. In: R.J. Singh, editor, Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series: Forage crops. Vol. 5. CRC Press, Boca Raton, FL. p. 81–101.
- Borem, A., Condori, M., Miranda, G.V. 2008. Mejoramiento de Plantas. Universidad Federal de Viçosa, MG, Brasil. 438 pp.
- Burton, GW. 1948. Artificial fog facilitates *Paspalum* emasculation. *J. Amer. Soc. Agron.* 40: 281-282.
- Burton, G.W. 1955. Breeding Pensacola bahiagrass, *Paspalum notatum*: Method of reproduction. *Agron. J.* 47: 311–314.
- Burton, G.W., Forbes, I. Jr., Jackson, J. 1970. Effect of ploidy on fertility and heterosis in Pensacola Bahiagrass. *Crop Sci.* 10: 63-66.
- Cidade, F. W., Dall’Agnol M., Bered F., Teixeira de Souza-Chies, T. 2008. Genetic diversity of the complex *Paspalum notatum* Fluggé (Paniceae: Panicopidae).

- Cidade, F.W., Teixeira de Souza-Chies, T., Batista, L.A.R., Dall'Agnol M., Zucchi M.I., Jungmann L., Souza A.P. 2009. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Paspalum notatum* Flüggé (Poaceae). Conserv. Genet. 10: 1977–1980.
- Cidade, F.W.; Vigna, B., De Souza, F., Walls, J.F., Dall'Agnol, M., M. Zucchi, Teixeira de Souza-Chies, T., Souza, A.P. 2013. Genetic variation in polyploid forage grass: Assessing the molecular genetic variability in the *Paspalum* genus. BMC Genet. 14:50.
- Crowe, L.K. 1971. The polygenic control of outbreeding in *Borago officinalis*. Heredity 27: 111-118.
- Daurelio, L.D., Espinoza, F., Quarín, C.L., Pessino, S.C. (2004). Genetic diversity in sexual diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry. Plant Syst. Evol. 244: 189-199.
- Devey, F., Fearon, C.H., Haywardt, M.D., Lawrence, M.J. 1994. Self-incompatibility in ryegrass XI. Number and frequency of alleles in a cultivar of *Lolium perenne* L. Heredity 73: 262-264.
- Fearon, C. H., Cornish, M. A., Haywardt, M. D., Lawrence M. J. 1994. Self-incompatibility in ryegrass X. Number and frequency of alleles in a natural population of *Lolium perenne* L. Heredity 73: 254-261.
- Forbes, I. Jr., Burton, G.W. 1961. Cytology of diploids, natural and induced tetraploids and intraspecific hybrids of Bahiagrass, *Paspalum notatum* Flugge. Crop Sci. 1: 402-406.
- Ferrari Usandizaga, S.C. 2015. Sistemas genéticos y diversidad en *Acroceras macrum* Stapf. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Agrarias (FCA-UNR). 181 p.
- Gates, R.N.; Quarín, C.L.; Pedreira, C.G.S. (2004) Bahiagrass. In: Moser LE, Burson BL, Sollenberger LE (eds) Warm-season (C4) grasses. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. 651–680 pp.
- Gould, F.W. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. Can J. Bot. 44: 1683-1696.
- Jank, L., Valle, C.B., Resende, R.M.S. 2011. Breeding tropical forages. Crop Breed. Appl. Biot. S1: 27-34.

- Kokubu, T., Taira, M., 1982: Some morphological characters and reproductive method of diploid and tetraploid varieties in Rhodes grass *Chloris gayana* Kunth. Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 18, JP, pp. 61-68
- Lundqvist, A. 1958. Self-incompatibility in Rye IV. Factors related to self seeding. *Hereditas* 44: 193-256.
- Morrone, O.; L. Aagesen, M. A. Scataglini, D. L. Salariato, S. S. Denham, M. A. Chemisquy, S. M. Sede, L. M. Giussani, E. A. Kellogg & F. O. Zuloaga. 2012. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. *Cladistics* 28: 333-356.
- Parihar S.S., Pathak P.S. 2006. Flowering phenology and seed biology of selected tropical perennial grasses. *Tropical Ecol.* 47: 81-87.
- Quarin, C.L., Norrmann, G.A., Urbani, M.U. 1989. Polyploidization in aposporous *Paspalum* species. *Apomixis Newslett.* 1: 28–29.
- Quarin, C.L. 1999. Effect of pollen source and pollen ploidy on endosperm formation and seed set in pseudogamous apomictic *Paspalum notatum*. *Sex. Plant Reprod.* 11: 331–335.
- Quarin, C.L., Espinoza, F., Martínez, E.J., Pessino, S.C., Bovo O.A. 2001. A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. *Sex. Plant Reprod.* 13: 243-249.
- Quesenberry, K.H., Dampier, J.M., Lee, Y.Y., Smith, R.L., Acuña, C.A. 2010. Doubling the chromosome number of bahiagrass via tissue culture. *Euphytica* 175: 43-50.
- Quiroga, R.E. 2011. Variación morfológica en once poblaciones del pasto nativo *Trichloris crinita*. *Rev. Argent. Prod. Anim.* 31: 539.
- Rios, E., Blount, A., Harmon, P., Mackowiak, C., Kenworthy, K., Quesenberry, K. 2015. Ergot resistant tetraploid bahiagrass and fungicide effects on seed yield and quality. *Plant Health Progress* 2: 16: 56-62.
- Thaikua S., Ebina M., Kouki K., Inafuku M., Akamine H., Shimoda K., Suenaga K., Kawamoto Y. 2014. Preliminary evaluation on digestibility and the relation to morphology and water content of *Brachiaria* spp. and their heritability. *Grassl. Sci.* 61: 92–100.
- Tischler, C.R., Burson, B.L. 1995. Evaluating different bahiagrass cytotypes for heat tolerance and leaf epicuticular wax content. *Euphytica* 84: 229–235

- Tomas, P.A., Gottlieb, A.L., Schrauf, G.E., Poggio, L. 2013. Utilización de marcadores morfológicos y moleculares AFLP en la identificación de germoplasma nativo y cultivado de *Elymus scabrifolius* (Poaceae). Rev. FCA UNCUYO. 2013. 45(2): 85-100.
- Trang, Q.S., G.Wricke, W.E. Weber. 1982. Number of alleles at the incompatibility loci in Secale cereale L. Theor. Appl. Genet. 63: 245-248.
- Zilli A.L., Rios E.F., Quarín C.L., Martínez E.J. 2013. Obtención de una población tetraploide sexual sintética de *Paspalum notatum*. XLII Congreso Argentino de Genética y III Reunión SAG-NOA. Salta, Argentina. Journal of Basic & Applied Genetics Vol. XXIV (Suppl.1). Pág. 166. ISSN: BAG 1666-0390.