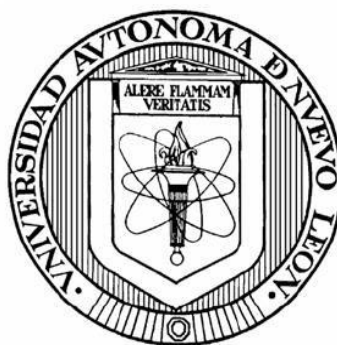


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CARÁCTER PRIMOGENITO DE *STAY-GREEN*, SU ESTABILIDAD  
E IMPORTANCIA EN LA CALIDAD DE CEBADA IMBERBE  
*HORDEUM VULGARE* (LINEO, 1753)

POR

MARÍA ALEJANDRA TORRES TAPIA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
Doctor en Ciencias con Acentuación en Manejo y  
Administración de Recursos Vegetales

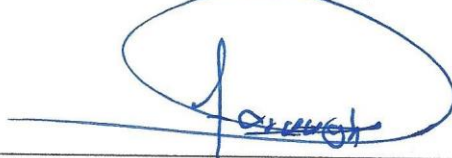
2021

CARÁCTER PRIMOGENITO DE STAY-GREEN, SU ESTABILIDAD

E IMPORTANCIA EN LA CALIDAD DE CEBADA IMBERBE

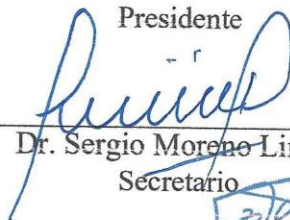
*HORDEUM VULGARE* (LINEO, 1753)

**Comité de Tesis**



Dr. Rahim Foroughbakhch Pournavab

Presidente



Dr. Sergio Moreno Limón

Secretario



Vocal


Dr. Víctor Manuel Zamora Villa



Vocal

Dr. Benito Pereyra Alférez

Vocal



Vocal

Dr. Maginot Ngangyo Heya

Vocal



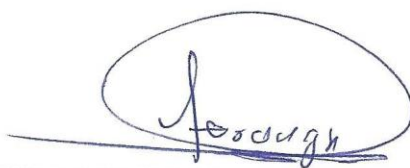
Dra. Katiunka Arévalo Niño  
Subdirectora de Posgrado



DIRECCIÓN  
DE POSGRADO

CARÁCTER PRIMOGENITO DE STAY-GREEN, SU ESTABILIDAD  
E IMPORTANCIA EN LA CALIDAD DE CEBADA IMBERBE  
*HORDEUM VULGARE* (LINEO, 1753)

**Dirección de Tesis**

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a hand-drawn oval. The signature appears to be 'R. Foroughbakhch'.

---

Dr. Rahim Foroughbakhch Pournavab  
Director interno

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping strokes.

---

Dr. Víctor Manuel Zamora Villa  
Director externo

## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco en primer lugar a mí Creador y Salvador Jesucristo, por darme la vida y mostrarme su misericordia en cada momento; ser mi refugio, sostén y paz en el caminar y desarrollo de este proyecto de mi vida.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por las facilidades y el gran apoyo proporcionado para mi desarrollo profesional. A la Universidad Autónoma de Nuevo León por brindarme la oportunidad de formar parte de su comunidad universitaria. A la SEP-SES por el Apoyo Convencional Nacional para Estudios de Doctorado No. 6690/18.

Al Dr. Rahim Foroughbakhch Pournavab, por darme la oportunidad desde que lo conocí en ser mi Director de tesis, por su amable atención en todo momento, por sus atinadas sugerencias y consejos durante el proyecto de investigación y mi desarrollo durante el doctorado, por el ánimo que contagia en el escribir, le estoy y estaré muy agradecida, con mucho cariño y aprecio.

Al Dr. Víctor Manuel Zamora Villa, por todo el apoyo incondicional que me brindo, por sus aportaciones, paciencia y sugerencias en cada parte del proyecto; por motivarme y ayudarme en salir adelante, gracias por estar ahí en cada momento.

Al Dr. Sergio Moreno Limón, por sus valiosas aportaciones en la realización del proyecto y ser parte de mi comité de asesoría.

Al Dr. Maginot Ngangyo Heya, por su calidad humana y amable disponibilidad, por sus consejos y sencillez en brindarme apoyo en la realización de este trabajo, por ser parte del comité de asesoría y mí tutor.

Al MC. Modesto Colín Rico, por brindarme el apoyo y confianza en aportarme de sus materiales, resultado de muchos años de esfuerzo y dedicación en el mejoramiento genético de cebadas; por su calidez y amistad, muchas gracias.

Muy especialmente a la TLQ. Martha Alicia Jaramillo Sánchez, amiga incondicional y compañera en los muestreos en campo y laboratorio, gracias por todo su apoyo y el tiempo extra invertido, que no fue en vano; gracias amiga.

Al Dr. Benito Pereyra Alférez, por su amable disponibilidad, por sus valiosas sugerencias en la realización del estudio de las biomoléculas del proyecto, por sermiembro de mi comité de asesoría y mi tutor.

A todas mis amigas, por contar su gran amistad, por su apoyo y ánimo que me dieron para cumplir mí meta; gracias a cada una.

## **DEDICATORIAS**

Este trabajo se lo dedico con todo mi corazón, a mi AMADA FAMILIA:

A mí muy amado Víctor, por ser mí complemento, paciente y amoroso esposo; por siempre estar dispuesto y sobre todo por su gran apoyo incondicional para poder superarme.

A mis queridos hijos Eric Eduardo y Gabriela Alejandra, por su amor, paciencia, apoyo y colaboración en todo momento, que este logro pueda ser de ejemplo de superación personal y profesional en sus vidas.

A mi madre Josefina Tapia, por darme la vida, por enseñarme a luchar y seguir adelante en la vida, por sus oraciones y fe en que todo saldría bien.

A mis hermanos (as): Georgina, Patricia, Alfredo, Ricardo, José Antonio, Roberto y Mauricio, por ese amor que nos une, por sus oraciones, por su apoyo y ánimos que me mostraron para seguir adelante, gracias por estar conmigo.

A mis sobrinos: Alejandro, Itzel, Daniel, Karen, Rebeca, Jesús, Andrea, Gerardo y Abigail, por ser parte importante de nuestra familia y por sus muestras de amor.

A mi querida y amada suegra Carmen Villa (+), por su amor que siempre me demostró y por creer en mí.

A mis cuñadas: Socorro, María de Jesús y Carmen, por ser parte importante de mi vida, por sus muestras de cariño y apoyo.

# ÍNDICE

SECCIÓN	Pag.
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNIDCE DE TABLAS.....	x
ÍNIDCE DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	xix
RESUMEN.....	xxi
ABSTRACT.....	xxiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Origen de la cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) .....	4
2.2 Descripción botánica.....	4
2.3 Taxonomía de la cebada.....	7
2.4 Importancia económica de los cereales.....	7
2.5 Descripción agronómica de la cebada.....	9
2.6 Mejoramiento genético en cebada.....	10
2.7 Carácter genético de <i>stay green</i> .....	12
2.8 Sensores infrarrojos, herramientas posibles para detección del carácter <i>stay green</i> .....	14
2.9 Biomoléculas relacionadas con el carácter <i>stay green</i> .....	16
III. JUSTIFICACIÓN.....	23
IV. HIPÓTESIS.....	24
V. OBJETIVOS.....	25
5.1 Objetivo general.....	25
5.2 Objetivos particulares.....	25
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
6.1 Ubicación de establecimiento en campo y laboratorio del estudio en general	26
6.2 Metodología del estudio en general.....	29
6.2.1 Etapa 1: Estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada.....	29

6.2.1.1	Material genético en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	29
6.2.1.2	Establecimiento de campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada.....	30
6.2.1.3	Variables evaluadas en campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada .....	31
6.2.1.4	Variables evaluadas de laboratorio en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada .....	32
6.2.1.5	Análisis estadístico en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada .....	34
6.2.3	Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	34
6.2.3.1	Material genético en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje .....	34
6.2.3.2	Establecimiento y manejo en campo en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje .....	35
6.2.3.3	Variables evaluadas de campo en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje .....	36
6.2.3.4	Variables evaluadas de laboratorio en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	37
6.2.3.5	Análisis estadístico en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje .....	40
6.2.4	Etapa 3. Respuesta de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter <i>stay green</i> , rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	40
6.2.4.1	Material genético en la adición de nitrógeno .....	40
6.2.4.2	Establecimiento en campo de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno .....	41
6.2.4.3	Tratamientos aplicados en genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno .....	42
6.2.4.4	Variables evaluadas en campo de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno .....	42



6.2.4.5	Variables evaluadas en laboratorio de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno .....	43
6.2.4.6	Análisis estadístico de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter <i>stay green</i> , rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	43
6.2.5	Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada .....	44
6.2.5.1	Ubicación y material genético en la genotipificación.....	44
6.2.5.2	Proceso en la genotipificación de progenies.....	45
6.2.5.3	Emisión de datos y análisis de datos en la genotipificación ....	46
6.2.5.4	Secuencias involucradas en la fotosíntesis y <i>stay green</i> de <i>Hordeum vulgare</i> L. en la genotipificación .....	48
VII.	RESULTADOS.....	53
7.1	Etapa 1: Estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada.....	53
7.1.1	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	53
7.1.2	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de laboratorio en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	59
7.1.3	Análisis de conglomerados de variables en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada a través de los días de muestreo.....	66
7.1.4	Análisis de conglomerados de genotipos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> a través de los días de muestreo.....	67
7.1.5	Análisis de conglomerados de genotipos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada a través de localidades y días de muestreo.....	70
7.2	Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	72
7.2.1	Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla .....	72
7.2.1.1	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de rendimiento y calidad física de semillas.....	72
7.2.1.2	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de la calidad fisiológica de semillas.....	74

7.2.1.3	Análisis de conglomerados de variables y genotipos en el rendimiento y calidad de semillas .....	80
7.2.2	Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de forraje.....	84
7.2.2.1	Calidad nutritiva de forraje de progenies sobresalientes .....	84
7.2.3	Análisis multivariados de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	87
7.3	Etapa 3: Genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter <i>stay green</i> , rendimiento y calidad de semilla- forraje.....	91
7.3.1	Respuesta de las variables de campo de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno .....	91
7.3.1.1	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de campo de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno .....	91
7.3.1.2	Temperatura de dosel, altura de planta, cobertura de suelo y rendimiento de forraje de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos.....	93
7.3.1.3	Análisis de regresión del índice de vegetación diferencial normalizado y contenido de clorofila de genotipos por dosis de nitrógeno a través de muestreos.....	97
7.3.1.4	Superficie de respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado y contenido de clorofila de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos.....	100
7.3.2	Rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno.....	102
7.3.2.1	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno.....	102
7.3.2.2	Rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos.....	105
7.3.2.3	Análisis de regresión del rendimiento y calidad de semillas de	

los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno a través de localidades.....	109
7. 4 Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada.....	112
7.4.1 Información emitida del Novaseq 6000 .....	112
7.4.2 Análisis de conglomerados de las progenies sobresalientes y progenitores de cebada .....	113
7.4.3 Análisis de la matriz de dominancia y heterocidad de los cromosomas de las progenies sobresalientes y progenitores de cebada.....	114
7.4.4 Análisis de alineamiento de secuencias SNPs con biomoléculas involucradas en el proceso de fotosíntesis y <i>stay-green</i> de <i>Hordeum vulgare</i> .....	116
VIII. DISCUSIÓN.....	127
8.1 Etapa 1: Estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada.....	127
8.1.1 Variables agronómicas y de sensores infrarrojos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada.....	127
8.1.2 Estudio estomático en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada .....	129
8.1.3 Relación de variables y genotipos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en progenies de cebada .....	130
8. 2 Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje .....	133
8.2.1 Factores que influyen en el rendimiento y calidad de semillas .....	133
8.2.2 Selección de progenies en base a rendimiento y calidad de semillas	136
8.2.3 Comparación con otros estudios en el rendimiento y calidad de forraje.....	137
8.2.4 Selección de progenies en base a rendimiento y calidad de forraje	138
8.3 Etapa 3: Respuesta de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter <i>stay green</i> , rendimiento y calidad de semilla-forraje.....	139
8.3.1 Rendimiento y calidad de forraje (variables agronómicas y de sensores infrarrojos) de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno.....	139

8.3.2 El carácter <i>stay green</i> en la adición de nitrógeno.....	141
8.3.3 Rendimiento y calidad de semilla de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno.....	143
8.4 Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada .....	145
IX. CONCLUSIONES.....	149
X. ANEXOS.....	152
XI. PERSPECTIVAS.....	163
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	164
XIII. RESUMEN BIOGRÁFICO.....	182

## ÍNDICE DE TABLAS

No. Tabla		Pag.
6.1	Registro de temperaturas mínimas y máximas de los meses (diciembre-junio) y años (2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019), los ciclos de producción de los materiales genéticos del estudio .....	28
6.2	Identificación de los materiales genéticos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	29
6.3	Materiales genéticos selectos para evaluar la calidad nutritiva de forraje en dos localidades en el ciclo O-I, 2018-2019.....	35
6.4	Dosis de fertilización nitrogenada (N <sub>2</sub> ) y fósforo (P) en dos cebadas forrajeras imberbes en dos localidades, en el ciclo O-I, 2018-2019.....	42
6.5	Materiales genéticos selectos para la genotipificación mediante microarreglos por Dartseq.....	44
6.6	Identificación de biomoléculas, secuencia de aminoácidos y nucleótidos involucradas en la fotosíntesis .....	49
7.1	Cuadrados medios, nivel de significancia de las variables de campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	53
7.2	Comparación de medias entre localidades y los días de muestreo de las variables de campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	54
7.3	Comparación de medias entre los genotipos estudiados en las variables de campo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	55
7.4	Cuadrados medios y nivel de significancia de las variables del estudio estomático de la superficie del haz de la hoja en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	60
7.5	Cuadrados medios y nivel de significancia de las variables del estudio estomático de la superficie del envés de la hoja en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	60
7.6	Comparación de medias entre localidades y días de muestreo de las variables del estudio estomático en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	61
7.7	Comparación de medias entre genotipos en las variables del estudio estomático de la superficie del haz de la hoja en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	62
7.8	Comparación de medias entre genotipos estudiados en las variables del estudio	

	estomático de la superficie del envés de la hoja en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	63
7.9	Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados en el análisis de conglomerados de las variables agronómicas y estudio estomático en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	70
7.10	Cuadrados medios, nivel de significancia y comparación de medias entre localidades de rendimiento y calidad física de semillas en la selección de progenies .....	73
7.11	Comparación de medias entre genotipos de rendimiento y calidad física de semillas en la selección de progenies sobresalientes .....	74
7.12	Cuadrados medios y nivel de significancia, de la capacidad de germinación y vigor de semillas en la selección de progenies.....	75
7.13	Comparación de medias entre localidades de la capacidad de germinación y vigor de semillas en la selección de progenies .....	75
7.14	Comparación de medias entre genotipos de la capacidad de germinación y vigor en la selección de progenies.....	76
7.15	Cuadrados medios y nivel de significancia de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies.....	78
7.16	Comparación de medias entre localidades de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies.....	78
7.17	Comparación de medias entre genotipos de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies .....	78
7.18	Número de integrantes (n), media y desviación estándar de grupos generados en el análisis de conglomerados en el rendimiento y calidad de semillas en la selección de progenies.....	82
7.19	Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: proteína cruda, fibra detergente ácida y neutra, almidón, grasa cruda, etc., en la selección de progenies	84
7.20	Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: energías netas, valor relativo, calidad relativa y litros de leche en la selección de progenies.....	85
7.21	Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: contenido de cenizas y	

	minerales en la selección de progenies .....	87
7.22	Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados en el análisis de conglomerados de las variables agronómicas y calidad nutritiva de forraje en la selección de progenies.....	90
7.23	Análisis de varianza, cuadrados medios y nivel de significancia de las variables de campo en la adición de nitrógeno en los genotipos sobresalientes	92
7.24	Comparación de medias entre localidades, días de muestreo y genotipos de las variables de campo en la adición de nitrógeno .....	92
7.25	Análisis de varianza, cuadros medios y nivel de significancia del rendimiento y calidad física de semillas en la adición de nitrógeno en genotipos sobresalientes ..	103
7.26	Análisis de varianza, cuadros medios y nivel de significancia de la calidad fisiológica de semillas en la adición de nitrógeno en genotipos sobresalientes.....	104
7.27	Comparación de medias entre localidades y genotipos de rendimiento y calidad de semillas en la adición de nitrógeno .....	104
7.28	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de rendimiento y calidad de semillas en GABYAN95 a través localidades .....	110
7.29	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de rendimiento y calidad de semillas en la línea CANI-85 a través de localidades.....	111
7.30	Secuencias de alelos dominantes (SPNs) encontrados en Dartseq con similitud de 88-100% con biomoléculas involucradas en el proceso de fotosíntesis y <i>stay green</i> de <i>Hordeum vulgare</i> .....	117

## ÍNDICE DE FIGURAS

No. Figura		Pag.
2.1	Cultivo de cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.); A) Apariencia general, donde el diámetro del tallo disminuye en la parte superior de la planta; B) Estructura del tallo cilíndrico; C) Estructura y posición de las hojas (ancho de 5-15 mm y longitud de 20-40 cm) .....	5
2.3	A) Posición de la hoja bandera en el cultivo de cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.); B) Longitud de la hoja bandera (15 cm); C) Inflorescencia sin aristas de la cebada forrajera.....	6
2.3	Carácter de <i>stay green</i> del progenitor GABYAN95, cebada forrajera sin aristas (imberbe) .....	11
2.4	Principales actividades bioquímicas del proceso de fotosíntesis en el transporte de electrones (Allen <i>et al.</i> , 2011) .....	18
6.1	Ejido San Lorenzo, en San Pedro de la Colonias, Coahuila. Ubicado en las coordenadas 25°43' 26" de latitud norte y 103° 09'12.0" de longitud oeste (flecha roja), Localidad 1. Escala 200 m: 3.5 mm.....	26
6.2	Zaragoza, Coahuila. Ubicado en las coordenadas 28°30' de latitud norte y 100° 55' de longitud oeste (flecha roja). Localidad 2. Escala 500 m: 3 mm.....	27
6.3	Navidad, Nuevo León. Ubicado en las coordenadas 25°04' de latitud norte y 100° 37' de longitud oeste (flecha roja). Localidad 3. Escala 1 Km: 10.4 mm.....	27
6.4	Establecimiento y siembra de genotipos en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> en las localidades: A) San Pedro de las Colonias-Coahuila y B) Zaragoza-Coahuila, en el ciclo 2017-2018.....	30
6.5	A) Evaluación del aparato estomático en un microscopio compuesto (Carl Zeiss) con una cámara digital (Pixera Winder Pro); B) Impresiones y medición de estomas de la epidermis de las hojas de cebada, avena y tricale 40X. Escala 1mm <sup>2</sup> :0.2mm y 1mm <sup>2</sup> :0.5mm. ....	33
6.6	Establecimiento de la evaluación de respuesta en la adición de nitrógeno de CANI-85 y GABYAN95 (etapa 3). A) Zaragoza-Coahuila. (Loc 2), B) Navidad-Nuevo León (Loc 3), ciclo 2018-2019. ....	41
7.1	Temperatura de dosel a través de localidades y días de muestreo en la	



	estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	56
7.2	Altura de planta (ALT) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	57
7.3	Índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	57
7.4	Índice de contenido de clorofila (ICC) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	58
7.5	Rendimiento de forraje seco (REND) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	59
7.6	Impresiones a 40 X de la epidermis del haz de hojas del estudio estomático en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> . A) Testigo cebada cv. GABYAN95, Escala 10mm <sup>2</sup> :0.46mm; B) Testigo triticales cv. Eronga-83, Escala 10mm <sup>2</sup> :0.55mm.....	62
7.7	Impresiones a 40 X de la epidermis del envés de hojas del estudio estomático en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> de progenies de cebada. A) Testigo cebada cv. GABYAN95, Escala 10mm <sup>2</sup> :0.46mm; B) Testigo triticales cv. Eronga-83, Escala 10mm <sup>2</sup> :0.55mm.....	64
7.8	Densidad estomática del haz y envés (DEH y DEE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	64
7.9	Longitud de estomas del haz y envés (LH y LE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> .....	65
7.10	Ancho de estomas del haz y envés (AH y AE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> de progenies de cebada.....	65
7.11	Agrupamiento de variables evaluadas a los 75 dds en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> , mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 100).	66
7.12	Agrupamiento de variables evaluadas a los 90 dds en la estabilidad del carácter <i>stay green</i> , mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 100).	67
7.13	Agrupamiento de genotipos evaluados a los 75 dds en la estabilidad de carácter <i>stay green</i> , mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 10)...	68
7.14	Agrupamiento de genotipos evaluados a los 90 dds en la estabilidad de carácter <i>stay green</i> mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 10)...	69
7.15	Agrupamiento de las variables: rendimiento y calidad de semillas en la selección de progenies sobresalientes, mediante el análisis de conglomerados (distancia de	

	ligamiento 200) .....	80
7.16	Agrupamiento de genotipos evaluados en la selección de progenies, mediante el análisis de conglomerados formando cuatro grupos a una distancia de 23.....	81
7.17	Componentes principales de las variables agronómicas y calidad nutritiva de forraje a los 90 dds en la selección de progenies .....	88
7.18	Componentes principales de los genotipos en base a las características agronómicas y calidad nutritiva de forraje a los 90 dds en la selección de progenies .....	89
7.19	Temperatura de dosel en los genotipos por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo.....	94
7.20	Altura de la planta en los genotipos por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo .....	94
7.21	Etapa fenológica de la planta en los genotipos por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo .....	95
7.22	Cobertura de suelo en los genotipos por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo .....	96
7.23	Rendimiento de forraje en los genotipos por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo.....	96
7.24	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> ) del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) en genotipo por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo.....	97
7.25	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> ) del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) en genotipo por días de muestreo a través de dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) .....	98
7.26	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> ) del índice del contenido de clorofila (ICC) en genotipo por adición de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo.....	99
7.27	Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> ) del índice del contenido de clorofila (ICC) en genotipo por días de muestreo a través de dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) .....	100
7.28	Superficie de respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) de genotipos sobresalientes a través de dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) y días de muestreo.....	101

7.29	Superficie de respuesta del índice de contenido de clorofila (ICC) de los genotipos sobresalientes a través de dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) y días de muestreo	102
7.30	Rendimiento de semillas en genotipo por dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila.....	105
7.31	Peso de mil semillas en genotipo por dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila.....	106
7.32	Capacidad de germinación (plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar) en genotipo por dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila.....	107
7.33	Vigor de semilla en longitud media de plúmula en genotipo por dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila.....	108
7.34	Vigor de semilla en peso seco de plántula en genotipo por dosis de N <sub>2</sub> (Kg N ha <sup>-1</sup> ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila.....	108
7.35	Similitudes entre los genotipos seleccionados en el estudio de genotipiado, dados por una distancia de ligamiento de 0.2 µm. ....	114
7.36	Diferencias de alelos sobre cromosomas 2H, 3H y 6H, teniendo homocigoto-dominante (verde), Heterocigoto (rojo), homocigoto-recesivo (naranja), y no se logro diferenciar por el equipo (blanco). Columnas: G2; G18; G3; G19; G4; G10; G12; G14; G15; G11; G23 (GABYAN95); G26 (Esperanza); G22 (Cerro prieto) .....	115
7.37	Diferencias de alelos sobre cromosomas 5H, 6H y ChrUn (sin cromosoma), teniendo homocigoto-dominante (verde), Heterocigoto (rojo), homocigoto-recesivo (naranja), y no se logro diferenciar por el equipo (blanco). Columnas: G2; G18; G3; G19; G4; G10; G12; G14; G15; G11; G23 (GABYAN95); G26 (Esperanza); G22 (Cerro prieto).....	115
7.38	Alineamiento en pares de ATPsintasa y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	118
7.39	Alineamiento en pares de Citocromo b6f y alelos dominantes (SNPs)	

	encontrados en Dartseq.....	118
7.40	Alineamiento en pares de fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	119
7.41	Alineamiento en pares de Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	120
7.42	Alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa A (PORA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	121
7.43	Alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa B (PORB) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	122
7.44	Resultados de alineamiento en pares de Ácido abscísico (ABA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	123
7.45	Alineamiento en pares de Ycf3 y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	124
7.46	Alineamiento en pares de proteína stay-green inducible a la senescencia y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq (Parte I).....	124
7.47	Alineamiento en pares del gen de proteína stay-green (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq (Parte II).....	125

## ANEXOS

No.		Pag
1	Complemento de resultados de alineamiento en pares de ATPsintasa y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	152
2	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Citocromo b6f y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	152
3	Complemento de resultados de alineamiento en pares de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCK) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	153
4	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ribulosa bifosfato carboxilasa (Rubisco) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	154
5	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa A (PORA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	155
6	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa B (PORB) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	156
7	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ácido abscísico (ABA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq. ....	158
8	Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ycf3 y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	159
9	Complemento de resultados de alineamiento en pares de proteína <i>stay green</i> inducible a la senescencia y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq	160
10	Complemento de resultados de alineamiento en pares del gen de proteína <i>stay green</i> (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	161
11	Complemento de resultados de alineamiento en pares del gen de proteína <i>stay green</i> (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq.....	162

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
SIAP	Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural y Pecuaria
INIFAP	Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias
CNPT	Centro Nacional de Prevención del Tiempo
CNVV	Catálogo Nacional de Variedades Vegetales
APHA	<i>American Public Health Association</i>
NDVI	Índice de Vegetación Diferencial Normalizado ( <i>Normalized Difference Vegetation Index</i> )
NIR	Infrarrojo cercano
SPAD	<i>Soil Plant Analysis Development</i>
ISTA	<i>Internacional Seed Testing Association</i>
AOSA	<i>Association of Official Seed Analysts</i>
UAAAN	Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
CANI	Cebada Antonio Narro Imberbe
Chl	Clorofila
CO <sub>2</sub>	Dioxido de carbono
NO <sub>3</sub>	Nitrato
ATP	Adenosin trifostato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato hidrogenado
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NH <sub>3</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de amonio
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (MAP)	Fosfato monoamónico o dihidrógeno fosfato de amonio
S	Azúfre
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
PSI	Fotosistema I
PSII	Fotosistema II
BAP	Bencil Amino Purina
POR	Protoclorofilide Oxido Reductasa
PORA	Protoclorofilide Oxido Reductasa A
PORB	Protoclorofilide Oxido Reductasa B
rbcL (Rubisco)	Ribulosa 1-5 difosfato carboxilasa oxidasa
PEPCK	Phosphoenolpiruvato carboxikinasa
ABA	Ácido abscísico
KDa	Kilo dalton
RFLPs	<i>Restricted Fragment Length polymorphisms</i>
RAPDs	<i>Random Amplified Polymorphic ADN</i>

ADN	Ácido desoxirribonucleico
SGR	<i>Stay green</i>
SSR	Microsatélites
Dart	<i>Diversity Arrays Technology</i>
DARTseq	<i>Diversity Arrays Technology Sequence</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
PAV	Variación de presencia-ausencia
1H...7H	Número de cromosoma de cebada
ChrUn	Alelo no identificado en un cromosoma
Dds	Días después de la siembra
kg ha <sup>-1</sup>	Kilogramos por hectárea
M	Metros
L ha <sup>-1</sup>	Litros por hectárea
t ha <sup>-1</sup>	Toneladas por hectárea
%	Por ciento
kg HL <sup>-1</sup>	Kilogramo por hectolitro
G	Gramos
cm pl <sup>-1</sup>	Centímetros por plántula
mg pl <sup>-1</sup>	Miligramos por plántula
Mcal Kg <sup>-1</sup>	Mili calorías por kilogramo de forraje seco
Lt de MS	Litros de leche de materia seca
μm	Micrómetro o micra
Estomas/mm <sup>2</sup>	Número de estomas por milímetro cuadrado

## RESUMEN

El carácter *stay green* en cebada (*Hordeum vulgare* L.) ha sido poco investigado y carece de información de su causa, estabilidad y el papel que desempeña. Sin embargo, se conoce que se trata de una actividad metabólica de la planta (funcional) o puede deberse a una simple acumulación de pigmentos (cosmético), lo que hace que sea de gran utilidad en la producción y mejoramiento de especies con fines forrajeros y producción de semillas. Se estudió la estabilidad del carácter *stay green* en 20 nuevas líneas progenie de cebada forrajera imberbe y la calidad de forraje y semilla en tres localidades (San Pedro de las Colonias, Coahuila; Zaragoza, Coahuila y Navidad, Nuevo León), mediante evaluaciones de campo y laboratorio en cuatro etapas: 1) La estabilidad del carácter *stay green* a través de tecnología infrarroja y estudio estomático en dos muestreos, a los 75 y 90 días después de la siembra (dds); 2) Selección de progenies en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje, con pruebas físicas, fisiológicas y bioquímicas; 3) Respuesta de genotipos sobresalientes a la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje en tres muestreos (75, 90 y 105 dds); 4) Genotipificación de progenies sobresalientes y sus progenitores mediante microarreglos (Dartseq), secuenciación (Novaseq 6000) y alineamiento de secuencias con biomoléculas involucradas en la fotosíntesis y el *stay green*. Se realizaron análisis de varianza como parcelas divididas, comparaciones de medias con la DMS ( $\alpha \leq 0.05$ ), análisis de regresión, de componentes principales (ACP) y de conglomerados (AC). En la etapa 1, se detectaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en todas las variables, San Pedro-Coahuila a 90 dds obtuvo los mayores valores en el ICC (50 - 55 Spad) y del estudio estomático en el largo de estomas (50 - 60  $\mu\text{m}$ ), sobresaliendo cuatro progenies con alto rendimiento de forraje (11.80 t ha<sup>-1</sup>). El AC en ambos días de muestreo identificó la asociación entre la temperatura de dosel y el ancho de estomas, así como el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) con el rendimiento de forraje; además de identificar una asociación estrecha entre los índices estomáticos y el largo de estomas de ambas superficies de la hoja bandera con el índice de contenido de clorofila. En la etapa 2, se detectaron diferencias altamente significativas en la mayoría de variables calidad de semillas: Zaragoza-Coahuila produjo mayor rendimiento (RENDS= 2.72 t ha<sup>-1</sup>), peso de mil



semillas (PMS= 57.2 g) y vigor (longitud media de radícula (LMR) de 13.9 cm pl<sup>-1</sup> y peso seco de plántula (PS) de 21.7 mg pl<sup>-1</sup>), siendo la mayoría de las progenies superiores a los testigos, sobresalieron las progenies CANI-9, CANI-10, CANI-15, CANI-63, CANI-69, CANI-70 y CANI-77 con alto RENDS (1.60 t ha<sup>-1</sup>), alta calidad física en PMS (41.78 g) y calidad fisiológica en las plántulas normales (93.57 %), así como alto vigor en LMP (11.43 cm pl<sup>-1</sup>). En la calidad nutritiva de forraje, las progenies CANI-9, CANI-85, CANI-99 y CANI-108 resultaron con alta proteína cruda (17.9 %) y mayor cantidad de leche en base seca (1477.5-1519.5 Litros). El ACP y AC identificaron una asociación positiva y significativa de la altura de planta y la etapa fenológica ( $r=0.63$ ), cobertura ( $r=0.86$ ), proteína cruda ( $r=0.72$ ), almidón ( $r=0.84$ ), pero negativo con NDVI ( $r=-0.80$ ); mientras que el contenido de clorofila tuvo una correlación positiva y significativa con la digestibilidad *in vitro* ( $r=0.83$ ), contenido de cenizas ( $r=0.64$ ). Las progenies CANI-10, CANI-82, CANI-104 y CANI-130 se diferenciaron por los mayores valores de altura de planta (110.00 cm), temperatura de dosel (18.74 °C) y contenido de fibra detergente ácida (38.51 %), pero producen menos leche (1361.50 L. En la etapa 3, se encontraron respuestas altamente significativas a la adición de nitrógeno en las variables, estableciendo que en Zaragoza-Coahuila a partir de una dosis de 150 Kg N ha<sup>-1</sup>, a los 75 dds, CANI-85 y GABYAN95 registraron la mayor altura de planta (107.5 cm), cobertura de terreno (91.6 %), rendimiento de forraje (9.0 t ha<sup>-1</sup>), índice de verdor (0.78) y contenido de clorofila (41.9 Spad). El análisis de regresión del índice verdor indicó una respuesta de CANI-85 superior al progenitor GABYAN95 a los 75 dds, así como del contenido de clorofilas cuales declinaron conforme el avance del desarrollo del cultivo. En la etapa 4, la información del secuenciador identificó 52,337 marcadores SilicoDart de alta calidad, 3,307 marcadores SNPs (*Single nucleotidos of polymorfim*), un polimorfismo de 91.82% con 148.049 alelos efectivos y un índice de diversidad de Shannon 69.8%, llegando a mostrar efectividad en la tecnología DArtseq en el análisis de genomas en cebadas. El análisis de alineamiento de frecuencias de ADN amplificadas de los cromosomas y secuencias de las biomoléculas (localizadas en Genbank y Uniprot) permitió identificar secuencias de alelos homocigoto-dominantes de 88 a 100% de similitud en biomoléculas con actividad fotosintética y *stay green*, reconociendo a seis líneas progenie con la proteína y gen *stay*

*green*. En conclusión, las progenies de cebada forrajera imberbe como CANI-15, CANI-85, CANI-99 y CANI-128 tienen mayor estabilidad del carácter *stay green* detectada por la tecnología infrarroja, aportando mayor altura de planta, rendimiento de forraje, actividad fotosintética y resistencia. En el rendimiento y calidad de semillas, CANI-80, CANI-85, CANI-99, CANI-103, CANI-104, CANI-G108, CANI-128 y CANI-131 son candidatos potenciales para su registro como variedades. En la producción y calidad nutritiva de forraje, CANI-1, CANI-15, CANI-82, CANI-85, CANI-104, CANI-128 son buena opción para los productores lecheros. En condiciones semiáridas, GABYAN95 y CANI-85 a 70-75 dds, requieren dosis de 150 Kg Nha<sup>-1</sup> para obtener alto índice de verdor y rendimiento de forraje. En Zaragoza-Coahuila, GABYAN95 requiere dosis 0- 60 Kg Nha<sup>-1</sup> y CANI-85 120 Kg Nha<sup>-1</sup> para tener altos rendimientos y calidad de semillas. La información de los microarreglos dados por SNPs y el uso de la plataforma DArTseq<sup>TM</sup>, son útiles en la genotipificación de cebadas, por detectar diferencias en secuencias homocigotas dominantes, recesivas y heterocigotas al tener similitudes por la distancia de ligamiento. Existe similitud entre las progenies y el progenitor GABYAN95 debido a la dominancia en los alelos localizados en los cromosomas 2H, 3H, 4H y 5H relacionados en la actividad fotosintética y el *stay green*. Se detectó un alto porcentaje de coincidencia en las secuencias del progenitor y sus progenies con más 12 nucleótidos de moléculas: Fosfoenolpiruvato carboxikinasa; Protoclorofilido oxidoreductasa A y B; Ácido abscísico; Proteína *stay green* inducible a la senescencia en cloroplasto y Gen *stay green* SGR.

## ABSTRACT

The understanding of the stay green characteristic in barley (*Hordeum vulgare* L.), has been little investigated and lacks information on its cause, stability and the role it plays, it is known that it is a metabolic activity of the plant (functional) or it may be due to a simple accumulation of pigments (cosmetic); which makes it very useful in the production and improvement of species for forage purposes and seed production. Stability of the stay green character was studied in 20 new lines progenie of awnless forage barley and the quality of forage and seed in three locations (San Pedro de las Colonias, Coahuila; Zaragoza, Coahuila and Navidad, Nuevo León), through field and laboratory evaluations in four stages: 1) Stability of the stay green character through infrared technology and stomatal study in two samplings, at 75 and 90 days after sowing (das); 2) Selection of progeny based on yield and quality of seed-forage, with physical, physiological and biochemical tests; 3) Response of outstanding genotypes to the addition of nitrogen in the expression of the stay green character, yield and quality of seed-forage in three samplings (75, 90 and 105 das); 4) Genotyping of outstanding progeny and their progenitors by microarrays (Dartseq), sequencing (Novaseq 6000) and sequence alignment with biomolecules involved in photosynthesis and stay green. Variance analyzes were performed as divided plots; comparisons of means with the DMS ( $\alpha \leq 0.05$ ); regression, principal components (PCA) and cluster (AC) analysis. In stage 1, differences were detected ( $p \leq 0.01$ ) in the variables, San Pedro-Coahuila at 90 das, obtained the highest values in the variables of infrared technology and the stomatal study, standing out four progeny with high forage yield ( $11.80 \text{ t ha}^{-1}$ ). The canopy temperature and the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) had a negative and significant correlation with the stomatal index of the upper and lower surfaces of flag leaf; but positive with the stomatal density of both leaf surfaces. While the NDVI with stomatal density of the upper and lower surfaces of flag leaf had a negative and significant association, and positive with the stomatal index of both leaf surfaces. In stage 2, highly significant differences were detected in most of the seed quality variables; Zaragoza-Coahuila produced higher yield, weight and vigor of seeds, and most of the progenies outperformed the controls, showing higher yield, weight of a thousand seeds, germination and vigor, standing out two progenies with higher seed

yield (2.5-3  $\text{tha}^{-1}$ ); another five progeny with high germination and vigor (greater than 95 and 70%, respectively). In the nutritional quality of forage, four progeny had high crude protein (17.9%) and a higher quantity of milk on a dry basis (1477.5-1519.5 Liters). The ACP and AC identified a positive and significant association between plant height and chlorophyll content, ash content, minerals and seed vigor; another related the canopy temperature with the quality of the seeds, and another related the greenness index with the nutritional quality of the forage. Three progenies were characterized by the highest values in plant height, forage yield, chlorophyll content, milk production, yield and seed germination; while another group of three progeny by the greenness index, plant height, chlorophyll content, yield and vigor of seeds, crude protein, neutral detergent fiber and crude fat. In stage 3, highly significant responses were found to the addition of nitrogen in the variables, establishing that in Zaragoza-Coahuila from a dose of 150  $\text{Kg N ha}^{-1}$ , at 75 das, CANI-85 and GABYAN95 recorded the higher plant height, ground cover, forage yield, greenness index and chlorophyll content. The regression analysis of the greenness index indicated a response of CANI-85 superior to the GABYAN95 parent at 75 das, as well as the chlorophyll content, which declined as the growth progressed. At stage 4, the sequencer information identified 52,337 high quality SilicoDart markers; 3,307 SNPs (Single nucleotides of polymorphism) markers; a polymorphism of 91.82% with 148,049 effective alleles and a 69.8% Shannon diversity index, showing effectiveness in DARTseq technology in the analysis of genomes in barley. The analysis of the alignment of amplified DNA frequencies of the chromosomes and sequences of the bio-molecules (located in Genbank and Uniprot), identified sequences of homozygous-dominant alleles of 88 to 100% similarity in biomolecules with photosynthetic and stay green activity, recognizing six progeny lines with the stay green protein and gene. In conclusion, beardless forage barley progenies such as CANI- 15, CANI-85, CANI-99 and CANI-128 have greater stability of the stay green character detected by infrared technology, providing greater plant height, forage yield, photosynthetic activity and resistance. Regarding seed yield and quality, CANI-80, CANI-85, CANI-99, CANI-103, CANI-104, CANI-G108, CANI-128 and CANI-131 are potential candidates for registration as varieties. In the production and nutritional quality of forage, CANI-1, CANI-15, CANI-82, CANI-85, CANI-104, CANI-128 are a good

option for dairy producers. In semi-arid conditions, GABYAN95 and CANI-85 at 70-75 das, require doses of 150 Kg Nha<sup>-1</sup> to obtain a high greenness index and forage yield. In Zaragoza-Coahuila, GABYAN95 requires doses 0-60 Kg Nha<sup>-1</sup> and CANI-85 120 Kg Nha<sup>-1</sup> to have high yields and quality of seeds. The information of the microarrays given by SNPs and the use of the DArTseq<sup>TM</sup> platform are useful in the genotyping of primes, by detecting differences in homozygous dominant, recessive and heterozygous sequences by having similarities by the distance of ligation. There is similarity between the progeny and the parent GABYAN95 due to the dominance in the alleles located on chromosomes 2H, 3H, 4H and 5H related in photosynthetic activity and stay green. A high percentage of coincidence was detected in the sequences of the parent and its progeny with more than 12 nucleotides of molecules: Phosphoenolpyruvate carboxykinase; Protochlorophyllido oxide reductase A and B; Abscisic acid; Stay green protein inducible to senescence in chloroplast and Gen stay green SGR.

## I. INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es un cultivo originario de Asia y África (Etiopía), y se considera como una de las plantas más antiguas del mundo, ya que se cultivó originalmente en Egipto, Grecia y China. En la mayor parte de Europa, Estados Unidos y Canadá se siembra en la época de primavera. Es resistente a la sequía y puede cultivarse en suelos poco profundos y pedregosos. Existen algunas variedades que son resistentes a la salinidad, con lo cual se mejoran los rendimientos en zonas de litoral. Se desarrolla desde el nivel del mar hasta más de 4 mil metros sobre el nivel de éste (Newman *et al.*, 2008).

De acuerdo con su volumen de producción, la cebada ocupa el cuarto lugar en importancia en el mundo, después del maíz, trigo y arroz, cultivos que pertenecen al grupo de cereales de mayor importancia, tanto por su producción como por el volumen que se destina al consumo humano. Sin embargo, la cebada junto con sorgo, avena y centeno (conocidos como cultivos secundarios) se producen en menor cantidad, entre ellos destaca cebada por obtener una mayor producción. La demanda de consumo se centra fundamentalmente en Arabia Saudita, Canadá, China, Estados Unidos, Rusia, Turquía, Ucrania y la Unión Europea para la elaboración de cerveza (FAO, 2020).

En México, además de ser el principal insumo en la industria cervecera, tiene la competencia de adaptación, rendimiento y nutritiva para ser una buena alternativa dentro de las variedades forrajeras (Colín *et al.*, 2007), abarcando su utilidad desde pastoreo, corte y almacenaje en silos, así como para cosecha tanto en grano como en verde para forraje, específicamente como alimento en la avicultura, en el ganado porcino y bovino. Este último es el más importante de los propósitos en tener alternativas de producción de forraje en la ganadería lechera, ya que a lo largo de la historia, se tiene una brecha substancial entre la producción nacional y la demanda de leche en México, donde el consumo de lácteos por habitante en el país ha alcanzado niveles elevados, por el crecimiento poblacional (Loera y Banda, 2017).

A razón de la fuerte necesidad de abastecer forraje y apoyar con la agroindustria para permanecer competitivamente en el mercado, en los últimos años se han generado líneas imberbes de cebada forrajera, con una cierta característica de *stay green*,

probablemente debida a la ocurrencia de una lenta movilización de nutrientes hacia la espiga o mayor permanencia del follaje.

Estas características se han estudiado en otras especies de cultivos como ballico, sorgo, arroz, y trigo donde el *stay green* se asocia con la retención de la capacidad de la fotosíntesis y rendimiento de grano (Gentinetta *et al.*, 1986; Thomas y Howarth, 2000). Sin embargo, en cebada a pesar de que se ha detectado dicha característica *stay green*, no se tiene información alguna de la causa y estabilidad de la misma o el papel que desempeña, ya sea en la actividad metabólica de la planta (funcional) o solo en acumulación de pigmentos (cosmético), lo que podría ser de gran utilidad en la producción y mejoramiento de la especie con fines forrajeros.

La ocurrencia del carácter *stay green* se ha estudiado desde puntos de vista diversos: determinación visual, fisiológica o marcadores moleculares. Desde el punto de vista fisiológico, la degradación de la clorofila es una conversión de la *Chl "a"* en una *Chl "b"* durante el proceso de senescencia foliar en el reverdecimiento o reverdecimiento inducido, esta relación se mantiene estable o incrementa (Gay y Thomas, 1996).

Otros estudios han demostrado que la presencia de proteínas activas, hormonas o condiciones de estrés por el ambiente (intensidad de luz solar, CO<sub>2</sub>, temperatura, déficit hídrico) causan cambios en el metabolismo de la planta, promoviendo la síntesis de clorofilas en tejido senescente o manteniendo la capacidad de fotosíntesis en la planta (Wingler *et al.*, 2004; Vicková *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2008). La evaluación del desarrollo de los cultivos en diferentes condiciones ambientales a través de tecnologías no destructivas, con el uso de sensores infrarrojos, permite identificar la presencia de biomoléculas como el contenido de clorofila, que han sido correlacionados con valores agronómicos como producción de materia seca, rendimiento de grano, altura de planta, etc. (Gregor y Maršalek, 2004; Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007; Reynolds *et al.*, 1999; Jordan *et al.*, 2012; Raun *et al.*, 2008).

Desde el punto de vista molecular, se ha detectado la presencia de genes con la expresión o silenciamiento de proteínas que retardan la senescencia en algunas especies, logrando generar hasta plantas mutantes con características de *stay green*, estableciendo con alta precisión la presencia de genes o la descripción completa de la secuencia

molecular a través de diferentes técnicas de secuenciación que provocan tal manifestación de *stay green* (Cha *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2011; Ramkumar *et al.*, 2019). Actualmente, la tecnología Dartseq permite secuenciar con gran rapidéz y confiabilidad el genoma de especies a un costo relativamente bajo, con la posibilidad de detectar las secuencias dominantes llamadas SNPs (*Single Nucleotides Polymorphsm*) entre individuos de interés, además de identificarlas en coincidencia con alguna secuencia de nucleotidos que forma parte de una biomolécula con actividades fotosintéticas o que esté asociada la característica *stay green* (Sakuraba *et al.* 2015; So *etal.*, 2017).



## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Origen de la cebada (*Hordeum vulgare* L.)

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) fue una de las primeras especies domesticadas, originaria del suroeste de Asia y África. En la antigüedad, la clasificaron en dos tipos, por un lado, estaba la dística o galática de dos carreras y por otro la cebada hexástica o caballuda de seis carreras (Bothmer *et al.*, 2003). También por ser un cereal de grano pequeño, fue clasificada por la época del año en dos tipos de variedades, conocidas como “de invierno” y “de primavera”, por sembrarse en diferentes estaciones del año. Además, a lo largo de los años, se han realizado intensos estudios referidos a su variabilidad morfológica, distribución de especies, ecología y capacidad de cruzamiento aspecto muy importante desde el punto de vista de la mejora de la cebada cultivada (Fedak, 1985). Respecto a su distribución se localiza al oeste de Asia y África del Norte, así como en Europa (Orabi *et al.*, 2007).

Las cebadas cultivadas se clasifican en cebadas de dos carreras (*Hordeum vulgare distichum*) y cebadas de seis carreras (*Hordeum vulgare hexastichum*). La cebada tipo dística de dos carreras, fue la primera en ser descrita, posiblemente por proceder de una especie similar a la actual *Hordeum vulgare*, subespecie *spontaneum*; mientras las cebadas de cuatro y seis carreras actuales, ha sido el resultado de mutaciones ocurridas en la naturaleza. En ambas se insertan en el mismo punto, sobre cada articulación del raquis, tres espiguillas, siendo fértil sólo la central y estériles las laterales en la cebada de dos carreras, y las tres fértiles en la cebada de seis carreras, en la que los granos laterales son ligeramente disimétricos (Bothmer *et al.*, 2003).

### 2.2 Descripción botánica

La cebada es una planta anual, que puede llegar a medir en promedio hasta 120 cm, con dos sistemas de raíces, seminales y adventicias cubiertas de pelos absorbentes, de profundidad dependiendo de la condición, textura y estructura del suelo, así como de la temperatura (Box, 2008). Las raíces seminales desaparecen en la planta adulta y las

adventicias se desarrollan en la base del tallo y son numerosas, más grandes y ramificadas que las raíces seminales. El tallo tiene una estructura cilíndrica con entrenudos huecos separados por articulaciones transversales con septos (Figura 2.1), contiene una corona principal con potencial de producir macollos secundarios. El número y longitud de macollos por planta está influenciado por la densidad de siembra, el genotipo y los factores ambientales.

Puede tener de seis a once entrenudos, de los cuales; el entrenudo basal es el más corto, y el diámetro de los entrenudos disminuye hacia la parte superior de la planta (Figura 2.1). El pedúnculo es la última parte del tallo entre el entrenudo y el collar que marca la transición hacia el raquis en la espiga (Newman y Newman, 2008).



Figura 2.1 Cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.); A) Apariencia general, donde el diámetro del tallo disminuye en la parte superior de la planta; B) Estructura del tallo cilíndrico; C) Estructura y posición de las hojas (ancho de 5-15 mm y longitud de 20-40 cm).

Las hojas son lineales 5-15 mm de ancho, ubicadas alternadamente en el tallo (Figura 2.1), su estructura es de envoltura, lámina, aurículas y lígula. La vaina rodea completamente el tallo. La lígula y aurículas distinguen la cebada de otros cereales y son muy útiles para la identificación ya que son lisas, envuelven al tallo y pueden ser pigmentados con antocianinas.

La hoja superior, llamado la hoja bandera, es a menudo la hoja más pequeña (Figura 2.2). No obstante, su vaina está más desarrollada y ofrece protección a la espiga tierna antes de su emergencia (Newman y Newman, 2008).



Figura 2.2 A) Posición de la hoja bandera en el cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.); B) Longitud de la hoja bandera (15 cm); C) Inflorescencia sin aristas de la cebada forrajera

La inflorescencia se conoce como la cabeza, y sus unidades de floración, las espiguillas, se unen directamente al eje central o raquis, a través de una extensión del tallo que soporta la espiga (Figura 2.2). Existen tres espiguillas en cada nudo de la espiga, llamados trillizos, alternados en lados opuestos de la espiga. Cada espiguilla se compone de dos glumas, que son brácteas vacías y un florete que incluye el lema, la palea, y los componentes reproductivos cerrados.

Dependiendo de la variedad, cada lema se extiende como una arista, o más raramente una capucha. Las glumas estériles en algunas variedades pueden ser aristadas o sin aristas (imberbe), descritas en la Figura 2.2. En las variedades de casco o peladas, el lema y palea se adhieren al grano.

En las variedades desnudas, el lema y palea no son adheridos y se separan del grano en la trilla. Este es un fruto seco, indehisciente denominado cariósipide. En la cebada de seis hileras, todas las espiguillas de un triplete son fértiles y capaces de desarrollar granos.

Las semillas laterales tienden a ser ligeramente asimétricas y, en algunas variedades (formas intermedias) son más pequeñas que el grano central. Mientras que la cebada de dos hileras, sólo la espiguilla central es fértil, produciendo una sola semilla encada nudo de la espiga, dándole una apariencia plana (Komatsuda *et al.*, 2007).

## 2.3 Taxonomía de la cebada

Según en el Species Plantarum 1:84-85.1753, por Linnaeus, Carl von, la cebada se ubica taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino: Plantae

Superdivisión: Espermatófita

División: Angiospermae

Clase: Monocotyledonae

Subclase: Commelínidae

Grupo: Glumiflora

Orden: Poales o Graminales

Familia: Gramíneas o Poáceas

Género: *Hordeum*

Especie: *Hordeum vulgare*

## 2.4 Importancia económica de los cereales

De manera general, la demanda de producción de cereales a nivel mundial es cada vez más notable en sus diversas formas de uso como alimento y materia prima en la industria, que de acuerdo a las predicciones sugeridas para el 2050, existirá un déficit en el abastecimiento de cereales, según el Foro “Cómo alimentar al mundo por expertos de alto nivel por la FAO”, en la perspectiva de la agricultura mundial, celebrado en Roma Italia (2009), donde afirmaron que puede aumentar la población mundial hasta más de un tercio (2,300 millones de personas) entre los años 2009 y 2050. Teniendo estimaciones de la producción total de cereales a nivel mundial de casi tres millones de toneladas al año; y realmente producir poco menos de un millón y medio de toneladas decereales secundarios, grupo al que pertenece el cultivo de cebada.

En México, según el informe de actividades del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera del año 2016, como un reflejo de la situación actual, se cuenta con una superficie nacional de 109.3 millones de hectáreas de producción, de los cuales, sólo 4 de cada 10 ha se destinan a la producción de alimentos. Del total de la

producción agrícola en 2014, el 73% se comercializó, el 23% se utilizó en el autoconsumo de los componentes humano o animal y el 4% restante se perdió durante la cosecha, el transporte o en el almacenamiento. La oferta de producción de cebada en promedio del 2014 al 2016 fue de 1,447.70 t, con una existencia inicial de 402.13 t, teniendo una producción de 913.07 t e importaciones de 132.5 t y demandas en el mercado nacional de 1,447.7 t, de las cuales 729.83 t fueron de uso industrial, 89.73 t para uso pecuario, 52.8 t de semillas para siembra, con una merma de 20.7 t y consumo total de 892.43 t, teniendo una disponibilidad para consumo de más de 1,447.4 t, ya que de exportación se tiene en promedio tan solo 0.3 t (SIAP, SAGARPA, 2016).

Esta demanda de alimentos, ha sido una consecuencia del aumento de la ingesta media de calorías en el mundo, aunado a los cambios de hábitos alimenticios o dietas de las personas, en que las formas de consumo de alimentos se están haciendo más similares en todo el mundo, incorporando alimentos más caros y de mayor calidad, como alimentos derivados de animales (carne y productos lácteos).

Años atrás, la cebada fue utilizada como alimento humano, pero a medida que el trigo fue ganando importancia, la cebada pasó a transformarse en material para la fabricación de cerveza y como forraje para los animales (Newman y Newman 2008), lo que promovió investigaciones para estudiar sus atributos, por presentar un rápido desarrollo del cultivo, producir forraje y/o grano en relativamente menor tiempo y costo en comparación con otros cereales, dando lugar a la generación de nuevos genotipos mejorados que ofrecen buena calidad forrajera (Colín *et al.*, 2007) e industrial (Callejo, 2002; Serna Saldivar, 2001).

Así mismo, en la búsqueda de materia prima a base de cereales para un mercado bioenergético, puede ser potencialmente enorme para aquellos países en que la mayor contribución en su desarrollo global depende de la agricultura, y requiera adoptar nuevos materiales genéticos, métodos de producción más eficaces y sostenibles, además de adaptarse a los cambios climáticos que hoy en día se han convertido en una amenaza para todos, incluyendo a las grandes potencias mundiales, por lo que la cebada tiene algunas ventajas sobre otros cereales del mismo ciclo por ser más vigorosa, resistente a la sequía, salinidad y puede cultivarse en suelos marginales (Colín *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2016; Domínguez *et al.*, 2016; Zamora *et al.*, 2017)

## 2.5 Descripción agronómica de la cebada

Las variedades que actualmente se utilizan en el norte de México, fueron formadas y desarrolladas en el Bajío Mexicano, en condiciones de suelo y agua consideradas de alto potencial productivo, de tal manera que al establecerlas en las condiciones semi desérticas del noreste de México, se comportan muy diferente al de aquellas áreas. Existen variedades para forraje que pueden tener mayor producción y rendimiento en comparación a las comerciales destinadas a la producción de malta. No obstante, estas variedades se ofrecen a menor precio y son poco disponibles en el mercado; el agricultor tiene la ventaja de comercializar el producto ya sea en grano o en forraje verde, como alimento para ganado cuando alcance el mejor precio (Colín *et al.*, 2007 y 2009).

Es importante reconocer que dentro de la comercialización de semillas el ofrecer variedades nuevas, diferentes y estables, se debe descartar al menos una característica sobresaliente como es la resistencia, tolerancia o rendimiento.

Este último, es influido por diferentes factores característicos de la planta como son: a) altura de la planta, parte por la disponibilidad de nitrógeno; b) características de la hoja, donde el ángulo y posición de la hoja están estrechamente correlacionados con el contenido de nitrógeno; c) capacidad de amacollamiento, tanto por el espacio entre los tallos y el número de ellos, que pueden estar juntos (tipo cerrado) o dispersos (tipo abierto); d) espiga, la relación paja-grano (índice de cosecha); e) la selección de variedades para alto rendimiento. Sin embargo, los factores más influyentes para el rendimiento en cebada y otros cereales son los niveles de nitrógeno, espaciamiento entre plantas, medio ambiente y en cierto grado de diferencia varietal (Ferraris y Couretot, 2006; Flores *et al.*, 2014), que en condiciones normales de crecimiento, produce alto rendimiento, buen peso y un producto forrajero (Poehlman, 1981).

Una fertilización tardía vía foliar propicia altos rendimientos, pero que están asociados frecuentemente con una baja concentración de proteínas en la semilla (Prystupa *et al.*, 2006; 2008); dosis altas de fertilización producen rendimientos elevados de semillas como es en la variedad Esperanza (Núñez *et al.*, 2001).

Se menciona que el momento óptimo de corte de cebada forrajera es al inicio de floración y en estado vegetativo cuando se van alimentar borregos en crecimiento u

ovejas en comienzo de gestación; si el cultivo acepta más de un corte, el momento óptimo sería en estado vegetativo avanzado, independientemente del estado fisiológico de los ovinos (Orcarberro y Briseño, 1983). Existe una correlación entre distintos caracteres, que pueden ahorrar esfuerzo y tiempo en la selección de genotipos superiores (Colín *et al.*, 2009; Calvo, 2016), sobre todo en líneas imberbes de cebada entre forraje seco total con peso de hojas, tallos y espiga dando un alto valor de calidad de forraje (Colín *et al.*, 2007; Hernández, 2009).

Algunas de estas características se pueden determinar de manera indirecta mediante el uso de tecnología infrarroja a través del Índice de Vegetación Diferencial Normalizado (*Normalized Difference Vegetation Index, NDVI* por su siglas en inglés) (Verhulst *et al.*, 2010), la cual se correlaciona con la producción de biomasa total (Zajac *et al.*, 2013), el contenido de nitrógeno (Melchiori, 2006), transpiración de la planta, temperatura de la planta e inclusive con la densidad estomática (Cristiano *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2013).

## 2.6 Mejoramiento genético en cebada

El Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ha sido el líder en el país sobre el desarrollo de tecnología para la producción de cebada, donde gran parte de sus aportaciones son debido al incremento de importaciones de cebada para la industria cervecera, enfocándose su desarrollo de tecnología para la producción de cebada con base en estrategias de agricultura de conservación, siembra a doble hilera, biofertilización, así como en el mejoramiento genético intensivo en la generación y adaptación de nuevas variedades para la producción de grano o malta, y en su mayoría para condiciones de temporal.

Como resultado de ello, han logrado inscribir 12 de las 15 variedades registradas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV, 2019) de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, denominadas: Alina, Armida, Adabella, Esmeralda, Esperanza, Cerro prieto, Cucapah 87, Capuchona, Centinela, Doña Josefa M08 y Maravilla; todas ellas sobresalen en el rendimiento de grano para malta en ambientes favorables al cultivo, como son Valles altos, San Luis Potosí y el Bajío (Pérez *et al.*,

2016; Beltrán *et al.*, 2011; Ramírez *et al.*, 2014). Sin embargo, cuando se presentan problemas en la calidad del grano para la industria maltera, pasa a ser un insumo en la industria alimentaria pecuaria (Ekboir *et al.*, 2003).

Ante esta situación, de insuficiente disponibilidad nacional de variedades cebada productoras de forraje, ya sea en verde o grano, y la poca información sobre el desarrollo de tecnología en la generación de nuevas variedades de cebada forrajera, resultan muy escasas opciones en la selección de cultivos para utilizar como insumos en la producción de forraje en el sector de la industria ganadera lechera (Colín, 2007).

En los últimos años, el Programa de Cereales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, encontró un área de oportunidad en el mejoramiento genético de cebada, en la generación de nuevos materiales para este sector, logrando inscribir en el año 2016 dos variedades en el CNVV, ALICIAN221 y GABYAN95, con características sobresalientes como sin arista o imberbes, buena adaptación, altos rendimientos de forraje y valor nutritivo (Colín *et al.*, 2007; Colín *et al.*, 2009).

Asimismo, en los años más recientes el Programa de Cereales, generó más de 45 líneas hermanas de cebada forrajera imberbe, producto de la cruce entre la variedad GABYAN95 con la variedad comercial Esperanza maltera liberada por el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). GABYAN95, al igual que su progenie presentan un carácter de *stay green* (Figura 2.3), que puede representar una ventaja para producir rendimientos mayores a otras variedades y especies como la avena que se usa ampliamente durante otoño-invierno (Colín *et al.*, 2007).



Figura 2.3 Carácter de *stay green* del progenitor GABYAN95, cebada forrajera sin aristas (imberbe)



## 2. 7 Carácter genético de *stay green*

Una producción de forraje con características de *stay green* es de suma importancia, al mantenerse el follaje casi siempre verde y llegar en un tiempo más retardado a ponerse amarillo (Thomas y Howarth 2000). Este carácter ha sido reportado en varios cultivos, entre ellos, se encuentra la cebada (Thomas y Smart, 1993), e incluso se ha hecho una clasificación de las formas en que se puede expresar este carácter, algunos pueden ser de tipo funcional y otros, meramente cosméticos (Thomas y Howarth, 2000).

El tipo A, muestra retraso en la inducción de senescencia, pero la tasa de degradación de clorofila es igual a una especie normal después de su inducción de senescencia. El tipo B, inicia la senescencia al mismo tiempo, pero la disminución de clorofila, el contenido y actividad fotosintética son mucho más lentos. El tipo C, conserva las clorofilas casi indefinidamente en las hojas senescentes, aunque su eficiencia fotosintética disminuye normalmente durante la senectud.

El tipo D, resulta en muerte súbita de la hoja por secado o congelación, y el tipo E, mantiene su nivel de clorofila mucho más alto en todo el desarrollo de la hoja sin aumentar la competencia fotosintética (Park *et al.*, 2007). Estos tipos de retraso de la inducción de senescencia y/o sus efectos, se han estudiado con más profundidad en especies como sorgo (Borrell *et al.*, 2000; Mahalakshmi y Bidinger, 2002), trigo duro (Spano *et al.*, 2003), trigo harinero (Del Blanco *et al.*, 2000; Joshi *et al.*, 2007) y ballico (Kingston-Smith *et al.*, 1997), entre otros. Sin embargo en cebada, este carácter poco se ha estudiado y difundido acerca del papel que desempeña, ya sea en la actividad metabólica de la planta (funcional) o solo en acumulación de pigmentos (cosmético).

En la selección de genotipos de algunas especies, se ha encontrado que el aumento de la fotosíntesis de las hojas, es debido a una penetración eficiente de radiación en altos niveles, pues es primordial que durante el llenado de grano, la fuente de fotosintatos en las hojas este presente y con ello se generará aumento en el rendimiento de grano (Reynolds *et al.*, 1999), aún cuando exista restricción de agua y nutrientes (Blum, 1985).

Además, la concentración de clorofila de hojas, puede estimar en forma indirecta el contenido de biomasa (Gregor y Marsálek, 2004).

Entre otras ventajas fisiológicas que pudiera aportar este carácter, es el que las especies resisten a la sequía en post floración, contribuyendo a una mejora en la alta producción bajo condiciones de sequedad y resistencia a enfermedades (Rosenow *et al.*, 1983, Marcel, 2006), o incluso se ha especulado que si se tarda la senescencia en la fase terminal de madurez, puede llevar al rendimiento aumentado y puede mejorar la calidad de grano o semilla (Cha *et al.*, 2002).

La calidad de la semilla es un concepto agronómico múltiple, un término relativo, que significa el grado de excelencia cuando se compara con un estándar aceptable, y que engloba a un conjunto de atributos o componentes físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios (Popinigis, 1985; Mendoza *et al.*, 2004; Castañeda *et al.*, 2009).

El componente o calidad física presenta un alto valor de semilla pura, mínimo de semillas de malezas de otros cultivos y materia inerte, además de contemplar el contenido de humedad, el tamaño, la uniformidad y densidad (Walter y Orlando, 2009; López, 1983). El componente fisiológico está determinado principalmente por la viabilidad y germinación de las semillas (González *et al.*, 2008).

La viabilidad de las semillas se refiere a la proporción de individuos vivos en un lote de semillas, a través de la conductividad eléctrica, que evalúa indirectamente el grado de estructuración de las membranas celulares la cantidad de iones lixiviados dentro de la solución de imbibición (Soto y Valiengo, 2011), y la germinación de las semillas, que refiere a una serie de procesos morfológicos y fisiológicos, de transformación del embrión en una plántula normal (Coll *et al.*, 1995).

Cuando se evalúan diversas características y con base en ellas se desea hacer selección, es preferible usar algún índice que mejora la eficiencia de la selección considerando al mismo tiempo las características más relevantes, a las cuales el investigador puede asignar un peso específico de acuerdo a la finalidad deseada (Jones y Qualset, 1984; Ortiz *et al.*; 2003).

Existen pocos reportes sobre la asociación o medición simultáneamente de la humedad del follaje en hojas, tallos y espigas en especies que tienen esta característica

de *stay green*, pero aún más escasos los que reportan el efecto de la característica en la calidad de forraje y semilla.

## 2.8 Sensores infrarrojos, herramientas posibles para detección del carácter *stay green*

Existen métodos, procedimientos y modelos matemáticos para estimar el contenido de clorofila, además de minimizar o destacar errores en la estimación debido a la presencia de otros pigmentos fotosintéticos y de compuestos químicos secundarios (APHA, 1998).

El desarrollo de tecnologías satelitales y la utilización de sensores remotos, como el SPAD 502 (*Soil Plant Analysis Development*, modelo 502), permite evaluar indirectamente el contenido de clorofila en las hojas, de forma no destructiva, construyendo un instrumento útil en las investigaciones de desarrollo y rendimiento de cultivos, generando información en el estado nutricional del cultivo, en la relación entre el estado nitrogenado de las plantas y los valores de clorofila de las hojas (Piekielek y Fox, 1992; Jemison y Lytle, 1996).

Otro sensor remoto que ha sido una herramienta eficaz, es el Índice de Vegetación Diferencial Normalizado (*Normalized Difference Vegetation Index*, NDVI), que puede asegurar la condición simulada del crecimiento, desarrollo o rendimiento del cultivo (Doraiswamy *et al.*, 2003), apoyando en el conocimiento de las relaciones clima/cultivo, así como el generar información aprovechable en la planeación y manejo de producción agropecuaria.

La interpretación del valor del NDVI, debe considerar los ciclos fenológicos y el desarrollo de la planta, así como los cambios en la distribución temporal y espacial causados por otros factores como ocurre con los cambios climáticos (Gilabert *et al.*, 1997); además de ser utilizado en la estimación de vegetación, biomasa, producción primaria; en los índices de área foliar en modelos locales, regionales y hasta en estudios en base el tiempo entre el uso y cobertura de la vegetación a escala global (Mašková *et al.*, 2008).

El NDVI, es la relación normalizada de los NIR (infrarrojo cercano) y las bandas de color rojo, obtenido de acuerdo a la relación:

$$\frac{(NIR - Rojo)}{(NIR + Rojo)} = NDVI$$

La aplicación de estos índices de reflectancia espectral, también ha sido práctica para adoptar la selección de los rasgos fisiológicos dentro del fitomejoramiento de cultivos y de programas de investigación, como el identificar genotipos de generación temprana, ahorrando costos en los estudios de rendimiento y en mejorar la selección de líneas ya avanzadas (Reynolds *et al.*, 1999). Detectar los aumentos en la tasa de fotosíntesis por el contenido de clorofilas en hojas, da la posibilidad de un incremento en el rendimiento de materia seca y grano, sin dejar de considerar el origen genético del cultivo (Slafer *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 2005). Además, se ha logrado detectar con sensores infrarrojos (NDVI, SPAD y temperatura de dosel) de 20-30 % de variación en la predicción de rendimiento en trigo con carácter *stay green* en diferentes etapas fenológicas (Lopes y Reynolds *et al.*, 2012).

El uso de sensores infrarrojo térmicos, logra en el desarrollo de cultivos, detectar el equilibrio existente entre los aspectos fisiológicos de la planta y climáticos, que pueden alterar o generar cambios en los mismos.

Entre estos aspectos están: la radiación incidente, la cobertura de la vegetación, la evapotranspiración, los mismos mecanismos fisiológicos de la planta, las condiciones climáticas y hasta la humedad del suelo. Por ejemplo, existe una relación inversamente proporcional entre la temperatura de dosel de la planta y la humedad del suelo, es decir, a medida que aumenta la temperatura, en respuesta a la disminución de humedad del suelo. Otro factor involucrado es el grado de cobertura de la vegetación, reflejado también en la temperatura de dosel (Houspanossian *et al.*, 2007).

La temperatura como tal, afecta en el desarrollo de las plantas debido a que tiene una influencia directa en la velocidad de los procesos metabólicos, a menor temperatura el desarrollo de la planta se retarda, y a medida que incrementa, se logra un aceleramiento en el metabolismo hasta llegar a acortar el ciclo biológico de la planta, aunado a la prematura o aceleración de la senescencia, teniendo por consecuencia una reducción en el periodo de llenado del grano (Ugarte *et al.*, 2007).

Sin embargo, la cebada a nivel mundial, tiene una amplia gama de condiciones climáticas y está sujeta a tensiones de frío y congelación en condiciones climáticas templadas y frías, donde su producción, integridad de la membrana y la tasa de supervivencia indica que es un cultivo de invierno, llamada cebada invernal, siendo más tolerante que una cebada de primavera (Hajiboland *et al.*, 2019).

## 2.9 Biomoléculas relacionadas con el carácter *stay green*

Es importante indicar que las hormonas son responsables de los patrones de expresión génica de diversos eventos de crecimiento y desarrollo, ya que participan en múltiples procesos fisiológicos como germinación, enraizamiento, movimientos trópicos, la tolerancia a diferente estrés biótico o abiótico, floración, maduración de frutos, la senescencia, o en el mismo proceso fotosintético de la planta, etc. (McCourt, 1999).

De acuerdo con Kamiya (2010), las biomoléculas están clasificadas por su estructura así como por su función fisiológica comprendiendo a las auxinas, giberelinas, etileno, jasmonatos, ácido salicílico, brasinosteroides, poliaminas, citoquininas y ácido abscísico (ABA). Esta última afecta muchos procesos en la planta y juega un papel muy importante en las respuestas de adaptación al estrés ambiental, ya que induce su síntesis y acumulación por los tejidos cuando se presenta un factor de estrés como el déficit hídrico, las bajas o altas temperaturas o la salinidad, promoviendo el cierre estomático y acumulación de solutos en la raíz debido a una rápida alteración en el flujo de iones en las células guarda del aparato estomático (Abe *et al.*, 1997; Kang *et al.*, 2002).

En las células guarda se contiene a los cloroplastos, quienes son los responsables de esta estimulación de la apertura de los estomas (Lawson *et al.*, 2014), y del intercambio de gases entre la atmósfera, teniendo en gran medida la asimilación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), en condiciones de luz fluctuantes por el ambiente, además de estar fuertemente correlacionada con la capacidad de la planta de realizar el proceso de fotosíntesis de manera eficiente durante la transmisión de luz (Li *et al.*, 2016), proceso transformador de la energía lumínica en energía electroquímica (ATP y NADPH) reduciendo el CO<sub>2</sub>, el SO<sub>4</sub> y el NO<sub>3</sub> para incorporarlos como C, S y N<sub>2</sub> en carbohidratos,

proteínas y lípidos, dando lugar al crecimiento y desarrollo de la planta. Además a través del estoma, también se regula el movimiento del agua por la transpiración, donde el compuesto donante es el H<sub>2</sub>O, que al entrar se oxida y se libera O<sub>2</sub> como un subproducto de la fotosíntesis.

En la cebada, la herencia de los cloroplastos es dada por el progenitor materno (Mogensen, 1996), teniendo un mayor número de cloroplastos poco después de la siembra, en plántulas de cinco días después de la siembra (Okkels, 1992). Como se sabe, el crecimiento de las hojas en las especies monocotiledóneas, ocurre primeramente por una división celular meristemática basal y luego ocurre una elongación de las células cerca de la base de la hoja, conteniendo proplástidos en estas células meristemáticas (Mullet, 1988) y en conforme se avanza a la punta de la hoja base, se contienen cloroplastos maduros, por lo que hace fácil su acceso para cualquier estudio del desarrollo del cloroplasto (Okkels, 1992).

Además, en las hojas primarias de la cebada, las células mesófilas contienen mayor número de cloroplastos activos que en las células de meristemo basal que contiene procloroplastos que no son fotosintéticos; por lo tanto, la acumulación de las células mesófilas con capacidad fotosintéticas depende del aumento de plastidios y la activación de genes nucleares y cloroplastos para ser eficiente el proceso de fotosíntesis (Bauggarther *et al.*, 1989).

Dada la importancia de los cloroplastos en la fotosíntesis en cebada morfológicamente se caracterizan por estar delimitados por una doble membrana, externa y una interna, formado dentro de ésta última por invaginación de membranas llamadas tilacoides conteniendo proteínas con características similares, que participan en las actividades del proceso de fotosíntesis (Scott *et al.*, 1994), como las proteínas Ycf3 que a su vez están asociadas con lípidos en la superficie de la membrana (Saski *et al.*, 2007).

Los tilacoides forman vesículas chatas, donde se almacenan los pigmentos primarios, como la clorofila, que además contiene un espacio interno o lumen, en forma individual o apiladas, constituyendo la grana, donde se llevan a cabo las principales actividades del proceso de fotosíntesis: Fotosistema I (PSI), fotosistema II (PSII), citocromo b<sub>6</sub>f y la ATP sintasa (Figura 2.4).

La clorofila es una molécula responsable de la absorción de la luz o radiación solar entre 380 a 710 nm, dentro del cloroplasto junto con otros pigmentos unidos a proteínas denominados complejos antena y están conectados a los PSI y PSII (Figura 2.4), a través de un centro de reacción que contienen aceptores y transportadores de electrones necesarios para llevar los electrones excitados por los fotones absorbidos hasta sus finales aceptores, las moléculas de NADP oxidado que se reducirá a NADPH (Manrique, 2003).

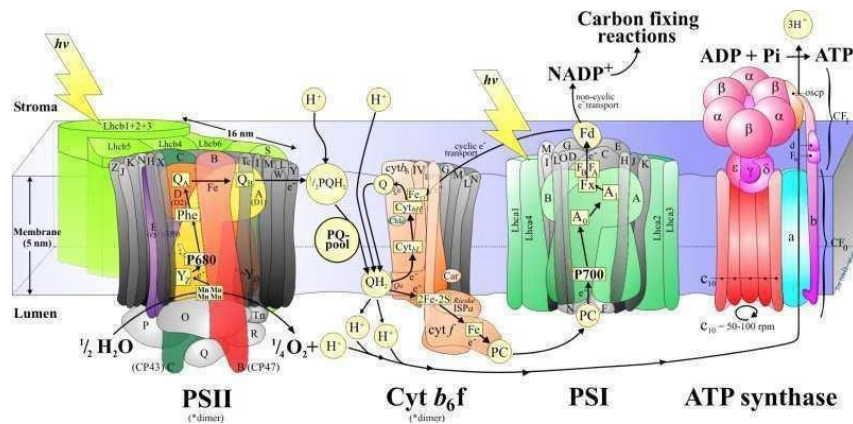


Figura. 2.4 Principales actividades bioquímicas del proceso de fotosíntesis en el transporte de electrones (Allen *et al.*, 2011)

En algunos estudios se ha demostrado que las hormonas presentes en la planta acusan ciertas alteraciones en el desarrollo, como el Bencil Amino Purina (BAP), que puede promover la síntesis de nuevas clorofilas en tejido senescente (Zavaleta *et al.*, 1999a, 1999b). En el reverdecimiento inducido las citocininas pueden modular la expresión de genes que codifican proteínas del complejo cosechador de luz (LHCP) y de enzimas como la Protoclorofilide Oxido Reductasa (POR) que participa activamente en la ruta biosintética de la *Chl "a"* y "*b*" (Zavaleta *et al.*, 1999a, 1999b; Plücker *et al.*, 2002). Sin embargo, en el caso de plantas que presentan enverdecimiento en forma natural, pueden intervenir otros tipos de compuestos que induzcan la producción de clorofila.

El núcleo de las células codifica la proteína POR, y se sintetiza en el citosol. El precursor de POR es aproximadamente de 44 kDa y se encuentra en plastidios (Lebedev y Timko 1998). La POR se compone por dos polipeptidos con peso de 38 y 36 kDa, fáciles de localizar en las primeras etapas del enverdecimiento de etioplastos. Cuando

están continuamente expuestos a la luz, estos polipeptidos corresponden a dos isoenzimas PORA y PORB, reacciones químicas que resultan en la formación de clorofila, y que se encuentran en la cebada (Schulz *et al.*, 1989; Holtorf *et al.*, 1995) y en *Arabidopsis thaliana* (Armstrong *et al.*, 1995; Reinbothe *et al.*, 1996). PORB está presente y activa durante el tiempo de vida de la planta, mientras que PORA aparece y funciona sólo durante las primeras horas de enverdecimiento (Masuda *et al.*, 2003; Pollman *et al.*, 2007).

Otra proteína soluble abundante en las plantas verdes es la Rubisco (ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa), que representa un 50 % de las proteínas del cloroplasto (Buchanan *et al.*, 2000), con gran importancia en el proceso de fotosíntesis, y que se ven afectadas por la cantidad de citocininas, las cuales retardan la degradación de Rubisco y otras proteínas que participan en la fotosíntesis como es en *Nicotiana tabacum* (Wingler *et al.*, 2004) y *Triticum aestivum* (Vičková *et al.*, 2006; Martínez, 2008). Se ha establecido la alternativa de evaluar la cantidad de clorofila en hoja bandera con ayuda de un SPAD y el contenido de proteína en el grano de cebada, encontrando una relación muy estrecha (González, 2009).

Estudios sobre el proceso de senescencia en cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Steffi), han demostrado que el contenido total de clorofila y proteínas comienza a disminuir en las primeras hojas de follaje a los pocos días de alcanzar la máxima longitud de la planta, indicando la degradación de las unidades fotosintéticas, y aproximadamente cinco semanas después, se alcanza la etapa final de senescencia de la hoja, casi sin clorofila y tan solo 30% de proteína. Sin embargo, la eficiencia de las unidades restantes del fotosistema II se mantiene alta entre otras semanas, para luego disminuir alcanzando valores cercanos a cero a otras dos semanas posteriores (Mierschet *et al.*, 2000).

Se sabe que en plantas verdes se contienen concentraciones elevadas de clorofila (Maiocchi y Avanza, 2004; Bautista *et al.*, 2016), dada por dos tipos de clorofila *Chl* "a" y *Chl* "b", existiendo una relación aproximada de 3:1 entre la primera y la segunda: la primera tiene un grupo metilo en la C-3 de carbono, mientras que la *Chl* "b" tiene un grupo formilo enlazado al mismo átomo de carbono. Además de las diferencias estructurales entre ambas, sus estabilidades térmicas también son diferentes. La *Chl* "a"



es térmicamente menos estable que la *Chl* “b” (Koca *et al.*, 2006). En general, en la primera etapa de la degradación de la clorofila de estas plantas verdes, hay un proceso de conversión de la *Chl* “a” en una *Chl* “b”, por lo que durante el proceso de senescencia foliar la relación *Chl a/b* disminuye, principalmente como resultado de la degradación o catabolismo de la *Chl* “a” en el enverdecimiento o reverdecimiento inducido (mutante), como es el caso de *Nicotiana rustica* y *Oryza sativa* bajo condiciones particulares (Gay y Thomas, 1996; Park *et al.*, 2007).

Todo ello, trae la posibilidad de usar marcadores morfológicos como isoenzimas, RFLPs (restricted fragment length polymorphisms), RAPDs (random amplified polymorphic DNA), que han permitido confeccionar mapas de ligamiento de alta densidad en el genoma, utilizados para seleccionar caracteres con utilidad agronómica, denominados también alelos mutantes en contraposición al alelo normal. Existen mapas de ligamiento con marcadores moleculares completos en varios cultivos como el tomate, maíz, trigo, cebada, etc. Estos marcadores con un efecto neutro o al menos no adverso en la planta pueden ser una ayuda valiosa en la selección (Moreno, 2001).

Un gen marcador debe detectar: a) polimorfismo, b) herencia mendeliana y no epistasia, c) insensibilidad a la influencia y efectos ambientales, d) ausencia de efectos en el desarrollo de la planta, es decir comportamiento como un gen neutro, e) facilidad en la expresión, y simplicidad en la identificación y análisis, f) co-dominancia, y g) posibilidad de detección en las primeras fases de desarrollo de la planta.

Se ha encontrado un gen entre otros, que participa en el desarrollo y es regulador de la degradación de clorofila durante la senescencia en diferentes estudios, donde han llegado a nombrarlo como STAYGREEN1 o también STAY-GREEN1 (SGR1) o NONYELLOWWING1 (NYE1) en *Arabidopsis thaliana* y arroz (Cha *et al.*, 2002; Ren *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2007). Los primeros estudios indicaron que las hojas se mantenían verdes durante la senescencia, identificando el gen SGR al codificar una nueva proteína cloroplástica (Park *et al.*, 2007).

Otros estudios, en varias especies aislaron y caracterizaron homólogos de SGR1, identificando que al tener mayor senescencia es más alto el SGR, y cuando existe una modificación o alteración en la transcripción debido a eventos de estrés en *Oryza sativa* (So *et al.*, 2007). Existe el fenotipo verde no funcional (cosmético) en un gen *stay green*

(SGR), que afecta la desagradación de la clorofila, pero no la senescencia (Thomas y Howart, 2000). En *Medicago m. truncatula* genera expresiones de genes implicados en diferentes procesos biológicos, (Zhou *et al.*, 2011), mientras que en otros casos, si se presenta un silenciamiento del SGR, se produce *stay green* en las plantas y por ende, se tiene mayor contenido de clorofila y proteína en la planta (Sakuraba *et al.*, 2015), o afecta la maduración de fruto, como es en *Solanum lycopersicum* (Luo *et al.*, 2013).

El generar progenies sobresalientes a partir de variedades con características destacadas, como el *stay green*, depende fundamentalmente de su variabilidad genética, y esta suele estimarse a partir de la frecuencia de individuos heterocigotos (heterocigosis o diversidad genética), es decir la frecuencia de individuos portadores de alelos diferentes para un gen dado, y de la diversidad alélica, o sea, el número de alelos distintos presentes en la población para un gen dado.

La diversidad génica y alélica suelen estimarse actualmente a nivel ADN, ahora llamado genotipificación, a través de técnicas de biología molecular, utilizando marcadores moleculares como los microsatélites (SSR) o los microarreglos por Dart (Diversity Arrays Technology). Ambos tienen una alta capacidad de detectar polimorfismo en ADN codificante para discriminar individuos homo y heterocigotos en especies diploides como la cebada. Sin embargo, los microarreglos resulta un sistema de bajo costo, alto rendimiento y capacidad de discriminación alélica, reproducibilidad y velocidad (Alam *et al.*, 2018; Sansaloni *et al.*, 2010), y permite además de identificar paralelamente miles de polimorfismos de tipo simple de los nucleótidos (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) o cambios en algunos nucleótidos o pequeñas inserciones y delaciones (InDels) para una selección genómica (Wenzi *et al.*, 2004).

De tal manera, que en combinación con plataformas de secuenciación de nueva generación como la DArTseq<sup>TM</sup>, considerada efectiva para analizar genomas de plantas, accede a descubrir marcadores de interés en todo el genoma a través de la reducción de la complejidad del genoma mediante enzimas de restricción y secuenciación de los fragmentos de restricción (Kilian *et al.* 2012; Rama *et al.*, 2014; Edet *et al.* 2018). El DArtseq se genera dos archivos de datos: SNP y SilicoDArt (SilicoDArt, 2019). El primero son los polimorfismos de nucleótidos encontrados en las secuencias, y el

segundo es la variación de presencia-ausencia (PAV) de las secuencias: el seleccionar uno de los archivos depende de la investigación.

En estudios recientes la utilización de Dartseq en cebada (*Hordeum vulgare* L.), ha apoyado en la identificación de genes específicos, como la resistencia a la roya en la oxidación de la hoja localizados en los cromosomas 2H y 5H, la aportación de un alto nivel de protección en la plántula, por lo que es potencialmente una valiosa fuente de resistencia para el mejoramiento varietal en el cromosoma 7H (Dracatos *et al.*, 2019). Otros estudios, identificaron genes en los cromosomas 1H, 2H, 4H, 5H y 7H como los responsables de la tolerancia a salinidad en diferentes ambientes (Ma *et al.*, 2015) y además, confirmaron que una región del cromosoma 2H está asociado con los parámetros de fluorescencia de la *Chl "a"* (Wójcik *et al.*, 2017). Sin embargo, otros estudios confirman que el cromosoma 2H es responsable de las respuestas a la sequía, basados en los cambios en la clorofila (Guo *et al.*, 2007).

Existen diferentes herramientas informáticas en plataformas disponibles en la web, que pueden apoyar en la selección de secuencias de ADN de interés en un estudio, mediante análisis de alineamientos de pares de secuencias, que tiene como principal propósito el generar un análisis estructural y funcional de las nuevas secuencias (SNPs) descubiertas. A medida que estas nuevas secuencias están siendo generadas a tasas exponenciales, es necesario compararlas y conocer las inferencias sobre la evolución de una nueva molécula en base a proteínas o genes existentes en las bases de datos del Genbank o de otras bibliotecas de secuencias geno-proteómicas (Legaria, 2004; Meneses *et al.*, 2011). En términos simples, el alineamiento de secuencias es el proceso en el cual diferentes secuencias son comparadas mediante la búsqueda de patrones de caracteres comunes y establecimiento de correspondencia de residuo-residuo entre secuencias relacionadas.

### III. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de cereales forrajeros resulta un eslabón importante en la cadena productiva de la leche para dar continuidad a la producción de forraje en la época invernal cuando decrece la productividad de la mayoría de especies forrajeras. Entre los cereales utilizados, la cebada tiene algunas ventajas sobre otros del mismo ciclo por ser más precoz, vigorosa, tolerante a la sequía, salinidad y puede cultivarse en suelos marginales.

Como consecuencia de estas ventajas, la cebada representa una buena abastecedora de forraje rápido en época de invierno (Colín *et al.*, 2007; Colín *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2016; Beltrán *et al.*, 2011; Ramírez *et al.*, 2014). En México, su utilización es casi nula comparado con países como Canadá, siendo las causas más probables, la ausencia de variedades especialmente diseñadas para aprovechamiento forrajero y el desconocimiento de su valor nutritivo (Gill *et al.*, 2013; Aguilar *et al.*, 2013).

Aunado a lo anterior, falta información que permita ofrecer semilla de alta calidad al productor que asegure el éxito en la producción de forraje. A lo largo de los últimos cinco años gracias al esfuerzo dedicado al mejoramiento genético y selección de la cebada forrajera, se ha podido generar la variedad GABYAN95, la cual presenta características de precocidad, alta producción de materia seca con calidad nutricional y el carácter *stay green*. Debido a estas características se ha utilizado como progenitor para generar progenies que combinen estos atributos, proporcionando una mayor precocidad. Sin embargo, se desconoce si el carácter *stay green* es de tipo funcional o no, y su posible utilización en programas de mejoramiento.

#### **IV. HIPÓTESIS**

La presencia del carácter *stay green* es estable en al menos una línea imberbe de cebada forrajera, debido a la presencia y actividad de alguna biomolécula precursora de clorofila en la planta, manifestándose en la calidad de forraje y semilla.

## V. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Estudiar la estabilidad del carácter *stay green* en líneas imberbes de cebada forrajera y su eficiencia en la calidad de forraje y semilla.

### 5.2 Objetivos particulares

- i. Evaluar la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada mediante parámetros de tecnología infrarroja y de estudio estomático.
- ii. Seleccionar las progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semillas-forraje, mediante pruebas físicas, fisiológicas y bioquímicas.
- iii. Evaluar la respuesta de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje mediante tecnología infrarroja y pruebas físicas y fisiológicas.
- iv. Genotipificar progenies sobresalientes, compararlos con sus progenitores mediante microarreglos por Dartseq, secuenciación de nueva generación Novaseq 6000 y alineamientos de secuencias con biomoléculas involucradas en la fotosíntesis y *stay green*.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Ubicación de establecimiento en campo y laboratorio del estudio en general

El establecimiento de los materiales genéticos se realizó en tres localidades, en los Estados de Coahuila y Nuevo León, como se indica a continuación:

- 1) Localidad 1 (Loc 1). Rancho Beta Santa Mónica S.P.R. de R. L. de C.V., Ejido San Lorenzo, Municipio San Pedro de las Colonias, Coahuila de Zaragoza (Figura 6.1), ubicado dentro de las coordenadas  $25^{\circ} 43' 26.0''$  de latitud norte y  $103^{\circ} 09' 12.0''$  de longitud oeste, a una altitud de 1,090 msnm, con un clima muy árido y semicálido, temperaturas promedio de 18-22 °C y precipitación pluvial anual de 181 mm (Arriaga *et al.*, 2000).



Figura 6.1 Ejido San Lorenzo, en San Pedro de la Colonias, Coahuila. Ubicado en las coordenadas  $25^{\circ} 43' 26''$  de latitud norte y  $103^{\circ} 09' 12.0''$  de longitud oeste (flecha roja), Localidad 1. Escala 200 m: 3.5 mm

- 2) Localidad 2 (Loc 2). Campo experimental Norte en el Municipio de Zaragoza Coahuila de Zaragoza (Figura 6.2), perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicado a  $28^{\circ} 30'$  latitud norte y  $100^{\circ} 55'$  longitud oeste, a una altitud de 360 msnm, con un clima árido-cálido, temperaturas promedio de 10-25 °C y precipitación media anual de 300 a 400 mm (Arriaga *et al.*, 2000).



Figura 6.2 Zaragoza, Coahuila. Ubicado en las coordenadas 28°30' de latitud norte y 100° 55' de longitud oeste (flecha roja). Localidad 2. Escala 500 m: 3 mm

- 3) Localidad 3 (Loc 3). Campo experimental “Ing. Humberto Treviño Siller” en Navidad, Nuevo León (Figura 6.3), ubicado en la Colonia agrícola de Navidad, del Municipio de Galeana, N.L., a 84 Km de la ciudad de Saltillo, Coahuila, por la carretera 57 (Saltillo - San Roberto), que se encuentra dentro de las coordenadas geográficas 25° 04' latitud norte y 100° 37' longitud oeste, y altitud de 1895 msnm. La temperatura media anual es de 14.6°C y, precipitación media anual de 492 mm (Arriaga *et al.*, 2000).



Figura 6.3 Navidad, Nuevo León. Ubicado en las coordenadas 25°04' de latitud norte y 100° 37' de longitud oeste (flecha roja). Localidad 3. Escala 1 Km: 10.4 mm

La temperatura promedio de los meses que comprendieron los ciclos del cultivo en las tres localidades aparece en la Tabla 6.1, obtenida del resumen mensual del Servicio Meteorológico Nacional, a través del Centro Nacional de Prevención del Tiempo CNPT (2019).



Tabla 6.1 Registro de temperaturas mínimas y máximas de los meses (diciembre-junio) y años (2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019), los ciclos de producción de los materiales genéticos del estudio

Año	Mes	Navidad N.L.		Zaragoza Coah.		San Pedro Coah.	
		Temp. Min	Temp. Max	Temp. Min	Temp. Max	Temp. Min	Temp. Max
2016	Dic	5	22	10	20	8	25
2017	Ene	5	20	10	25	10	27
	Feb	5	25	12	27	8	27
	Mar	10	25	15	27	10	27
	Abr	17	30	17	30	15	32
	May	17	32	22	32	17	35
	Jun	20	35	25	35	20	35
2018	Dic	5	20	10	17	7	22
	Ene	5	17	5	17	5	22
	Feb	10	22	10	22	15	27
	Mar	12	27	15	30	15	30
	Abr	17	30	17	27	15	32
	May	20	30	22	32	20	32
	Jun	22	32	27	35	20	32
	Jul	22	32	27	35	20	32
	Ago	22	32	25	35	22	32
	Sep	20	27	25	30	22	30
	Dic	5	22	7	22	8	22
	2019	Ene	5	22	7	20	7
Feb		10	25	10	22	10	25
Mar		12	25	12	22	12	25
Abr		15	27	15	30	15	32
May		17	30	17	32	17	35
Jun		22	32	25	35	22	32

Todas las temperaturas están dadas en grados Celsius (°C). Según el CNPT del Servicio Meteorológico Nacional (CNPT, 2019).

La evaluación de los materiales genéticos en laboratorio, de las diferentes etapas del estudio, se realizaron en tres laboratorios diferentes, descritos a continuación:

1. Laboratorio de Ensayos de semillas del Departamento de Fitomejoramiento, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicado en Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista, Saltillo, Coahuila.
2. Laboratorio AGRO-LAB México S.A. de C.V. miembro de la Red Mundial de Laboratorios Dairy One, Milk Laboratory, ubicado en el Parque Industrial Lagunero en Gómez Palacio Durango.
3. Laboratorio de Servicios de Análisis Genéticos para la Agricultura, perteneciente al laboratorio de Biociencias del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), ubicado en Texcoco, Estado de México.

## 6.2 Metodología del estudio en general

Para la presente investigación y llevar a cabo los objetivos planteados, el estudio se realizó en cuatro etapas correspondientes a cada objetivo particular, respectivamente se establecieron los materiales genéticos en diferentes localidades y actividades para su evaluación tanto en campo como en laboratorio.

### 6.2.1 Etapa 1: Estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

#### 6.2.1.1 Material genético en la estabilidad del carácter *stay green*

En esta primera etapa, se evaluaron 20 líneas progenies de cebada forrajera imberbe, producto de la cruce entre la variedad GABYAN95 con la variedad comercial Esperanza liberada por el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), desarrollados por el Programa de Cereales de Grano Pequeño de Invierno de la UAAAN.

Se utilizaron como testigos a dos variedades comerciales Cerro prieto y GABYAN95 y otras especies de grano pequeño como: una avena (cv Cuauhtémoc), una línea experimental de trigo (AN-266-99) y un triticale (cv Eronga-83), identificados en la Tabla 6.2

Tabla 6.2 Identificación de los materiales genéticos en la estabilidad del carácter *stay green*

Número	Genotipo	Número	Genotipo
G1	CANI-1-14	G13	CANI-99-14
G2	CANI-9-14	G14	CANI-103-14
G3	CANI-10-14	G15	CANI-104-14
G4	CANI-15-14	G16	CANI-108-14
G5	CANI-63-14	G17	CANI-126-14
G6	CANI-69-14	G18	CANI-128-14
G7	CANI-70-14	G19	CANI-130-14
G8	CANI-77-14	G20	CANI-131-14
G9	CANI-80-14	G21	Avena Cuauhtémoc
G10	CANI-81-14	G22	Cebada C. Prieto
G11	CANI-82-14	G23	Cebada GABYAN95
G12	CANI-85-14	G24	Trigo AN-266-99
CANI= Cebada Antonio Narro Imberbe		G25	Triticale ERONGA-83

### 6.2.1.2 Establecimiento en campo en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

Para el establecimiento de los genotipos en campo de la etapa 1, se realizó la siembra en dos localidades, San Pedro de las Colonias (Loc 1) y Zaragoza (Loc 2) en el Estado de Coahuila, en el ciclo Otoño-invierno del año 2017-2018.

Previamente a eso, se preparó el terreno conforme a las labores tradicionales en el establecimiento de cereales de grano pequeño bajo condiciones de riego, en siembra manual en suelo húmedo a una densidad de siembra de 120 kg ha<sup>-1</sup> en parcelas de 6 surcos de 3.0 m de longitud, espaciados a 0.3 m, con una fertilización de 120 unidades de nitrógeno (NH<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>), 80 unidades de fósforo (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (MAP)) y cero de potasio respectivamente (Figura 6.4).

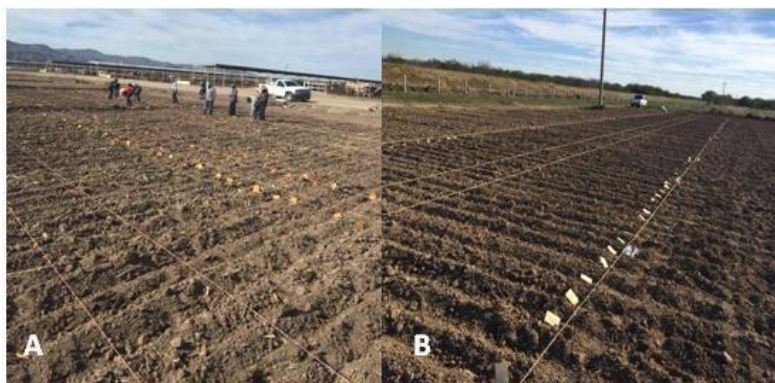


Figura 6.4 Establecimiento y siembra de genotipos en la estabilidad del carácter *stay green* en las localidades: A) San Pedro de las Colonias-Coahuila y B) Zaragoza-Coahuila, en el ciclo 2017-2018

Se aplicó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, donde cada parcela fue considerada una repetición de acuerdo con el procedimiento establecido por Zar (1996), ya que la distribución de bloques al azar es de uso común y eficaz, con mayores ventajas cuando se conoce el gradiente de variación, formando bloques perpendiculares a la dirección del gradiente.

Se realizaron las labores de control de malezas en campo, aplicando herbicida 2-4-D amina a una dosis de 1.5 L ha<sup>-1</sup>, sin uso de ningún insecticida o fungicida, y se complemento con deshierbes manuales posteriormente.

Se llevaron a cabo tres riegos: el primero se hizo al día siguiente de la siembra incluyendo el 50 % de la dosis de fertilización; el segundo riego se aplicó a los 30 días después de la siembra con el resto de la dosis de fertilización; y por último un tercer riego a los otros 30 días.

Durante el desarrollo de las plantas, se registraron las etapas fenológicas de acuerdo a la escala de Zadoks *et al.* (1974): a partir de la etapa de embuche, una vez emergida totalmente la hoja bandera, se realizaron dos lecturas a los 75 y 90 días después de la siembra, determinando: el índice de contenido de clorofila, la temperatura de dosel, el índice de vegetación diferencial normalizado y altura de planta por cada parcela.

Así mismo, se llevaron a cabo dos muestreos a los 75 y 90 días después de la siembra en la evaluación del estudio estomático de la planta en laboratorio, realizando un corte de nueve hojas bandera totalmente emergida, expandidas de la primera rama y con la misma orientación por parcela, se identificaron, envolvieron en papel aluminio y se trasladaron en un contenedor térmico al laboratorio.

#### 6.2.1.3 Variables evaluadas de campo en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

*Temperatura de dosel* (TEMP). La determinación de la temperatura de dosel se hizo mediante un termómetro infrarrojo IP-54, marca Fluke, que tiene la capacidad de medir desde -30 hasta 500°C con óptica de 10:1. Se dirigió el termómetro en la parte media de la parcela, se activo el laser y se tomó la temperatura total de un conjunto de plantas, registrando los datos en grados centígrados por parcela de cada material genético.

*Altura de planta* (ALT). La medición de la altura de la planta por parcela se consideró desde el suelo hasta la punta de la planta, utilizando un flexómetro en central de la parcela y registrando el dato en centímetros.

*Índice de vegetación diferencial normalizado* (NDVI). Se evaluó con sensores de luz roja e infrarroja, utilizando un sensor portátil, marca GreenSeeker™, el cual emite breves ráfagas de luz, dirigidas en la parte central de la parcela, obteniendo diferentes

cantidades de luz reflejada, y expresada una lectura NDVI desde 0.00 a 0.99 en las configuraciones electrónicas.

*Índice de contenido de clorofila (ICC)*. Se utilizó un determinador SPAD-420, marca konica Minolta, para medir el verdor de la planta por medio de la absorbancia utilizando una escala de 0-99, con dos longitudes de onda a 650 nm (rojo) y 940 nm (infrarrojo) (Kapotis *et al.*, 2003). Para su obtención, se tomaron 10 lecturas de la parte media de 10 hojas bandera de cada parcela experimental, registrando en unidades Spad (Chang and Robinson, 2003).

*Rendimiento de forraje (REND)*. Se cortó medio metro de plantas de los dos surcos centrales de cada parcela, con ayuda de una rozadera a 5 cm del suelo y colocando en bolsa de papel estraza, registrando el peso fresco en gramos. Se dejó secar la muestra a temperatura ambiente, y se procedió al pesado, para registrar el peso seco de la planta y calcular el rendimiento en Kg ha<sup>-1</sup>.

#### 6.2.1.4 Variables evaluadas de laboratorio en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

*Estudio estomático*. Una vez cortadas las hojas banderas de cada parcela y llevadas al laboratorio en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se determinaron las variables: Densidad e índice estomático en el haz y envés de la hoja, así como ancho y largo de estomas del haz y envés de la hoja de cada parcela de material genético.

Se realizaron impresiones epidérmicas del haz y del envés de las hojas bandera, utilizando poliestireno-xilol semi líquido, aplicado sobre la superficie foliar con un pincel. Una vez seca, la película fue removida con un trozo de cinta adhesiva transparente y se montó sobre un portaobjetos.

En cada impresión, se evaluaron al azar tres campos microscópicos a 40X, analizando 72 campos del microscopio por población, de la superficie envés y 72 de la superficie haz.

Así mismo, se determinó de cada impresión epidérmica la *Densidad Estomática (DE)* e *Índice Estomático (IE)* de acuerdo con el método de Cañizares *et al.* (2003), tanto para el haz como para el envés.

Además, se evaluaron el *largo* y el *ancho* de las células oclusivas, incluyendo el poro que componen el aparato estomático del envés (LE y AE), así como del haz (LH y AH), de acuerdo con la metodología de Ramírez *et al.* (2013).

De cada campo se tomó una microfotografía, en la que se contaron los estomas y las células epidérmicas, además de medir el ancho y largo ( $\mu\text{m}$ ) de las células oclusivas de los estomas en cada uno de los campos del microscopio compuesto (Carl Zeiss) con una cámara digital (Pixera Winder Pro) (Figura 6.5), en un total de 144 estomas para la superficie adaxial y 144 para la superficie abaxial por población, utilizando un software de medición (Axion Vision Rel. 4.8, Digipro4).

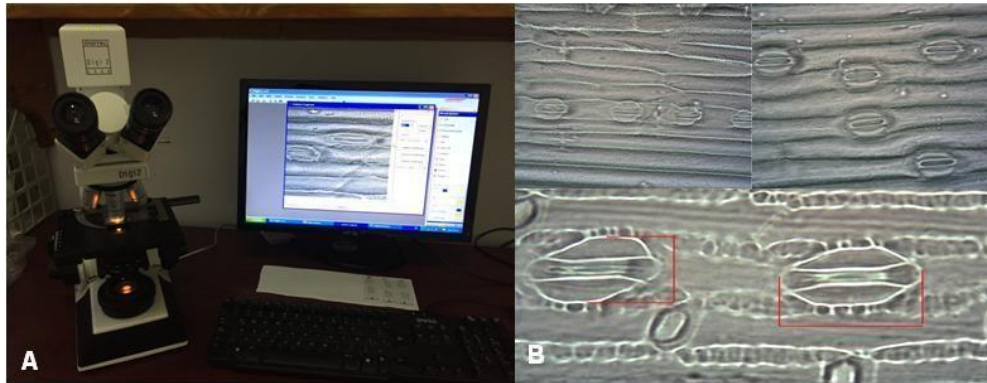


Figura 6.5 A) Evaluación del aparato estomático en un microscopio compuesto (Carl Zeiss) con una cámara digital (Pixera Winder Pro); B) Impresiones y medición de estomas de la epidermis de las hojas de cebada, avena y tricale 40X. Escala 1mm<sup>2</sup>:0.2mm y 1mm<sup>2</sup>:0.5mm

La *Densidad Estomática* (DE) y el *Índice Estomático* (IE) se determinaron con las ecuaciones siguientes según Wilkinson, 1979:

$$DE = \frac{\text{Número de estomas}}{0.02479 \text{ mm}^2 (\text{área de imagen fotografiada})} = \text{estomas por mm}^2$$

$$IE = \frac{\text{Número de estomas}}{\text{No. de células epidérmicas} + \text{No. de estomas}} \times 100$$

#### 6.2.1.5 Análisis estadístico en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

Los datos registrados de las variables de la primera etapa fueron analizados con el paquete Statistical Analysis System (SAS, Ver 6, 2009), obteniendo los cuadrados medios y niveles de significancias mediante un diseño de parcelas subdivididas, parcela grande (Localidades (Loc)), mediana (Muestras (M)) y chica (Genotipos (Geno)). Así mismo, se realizaron pruebas de comparación de medias, utilizando la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS),  $\alpha \leq 0.01$  entre fuentes de variación e interacciones (Loc x Geno, Loc x M, Geno x M, Loc x M x Geno).

Los datos se analizaron mediante un análisis de bloques al azar combinado entre localidades para detectar la estabilidad del carácter y las medias de los genotipos, mediante el análisis de componentes principales y análisis de conglomerados (Manly, 1986).

#### 6.2.3 Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Para llevar a cabo esta etapa, se consideraron dos evaluaciones de manera independiente: determinación de rendimiento y calidad de semillas de las progenies, y estimación de la calidad nutritiva de forraje de las líneas sobresalientes en la estabilidad del carácter *stay green* y del rendimiento y calidad de semillas.

##### 6.2.3.1 Material genético en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Se evaluaron 20 líneas progenies de cebada forrajera imberbe, en la determinación del rendimiento y calidad de semilla, teniendo como testigos: las variedades de cebada Cerro prieto y GABYAN95, la avena cv. Cuauhtémoc, la línea de trigo AN-266-99, y la variedad de triticale (Eronga-83), descritas en la Tabla 6.2.

Con respecto a la evaluación de la calidad nutritiva de forraje, se consideraron a diez líneas progenies de cebada forrajera imberbe, seleccionadas por la mayor estabilidad del carácter *stay green* y el rendimiento de forraje, resultado de la primera etapa, incluyendo a los cinco testigos, identificados en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3 Materiales genéticos selectos para evaluar la calidad nutritiva de forraje en dos localidades en el ciclo O-I, 2018-2019

No. de genotipo	Especie	Identificación
G2	Cebada imberbe/SG	CANI-9-14
G3	Cebada imberbe/SG	CANI-10-14
G4	Cebada imberbe/SG	CANI-15-14
G10	Cebada imberbe/SG	CANI-82-14
G11	Cebada imberbe/SG	CANI-85-14
G12	Cebada imberbe/SG	CANI-99-14
G14	Cebada imberbe/SG	CANI-104-14
G15	Cebada imberbe/SG	CANI-108-14
G18	Cebada imberbe/SG	CANI-129-14
G19	Cebada imberbe/SG	CANI-130-14
G21	Avena	Cuauhtémoc
G22	Cebada, barbada/maltera	Cerro prieto
G23	Cebada imberbe/SG	GABYAN95
G24	Trigo línea experimental	AN-266
G25	Triticale	Eronga-83

CANI= Cebada Antonio Narro Imberbe

#### 6.2.3.2 Establecimiento y manejo en campo en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

El establecimiento en campo de la etapa 2 se llevó a cabo en las tres localidades: San Pedro de las Colonias, Coahuila (Loc 1), en el ciclo otoño-invierno del año 2018-2019; en Zaragoza, Coahuila (Loc 2), en los ciclos otoño-invierno de los años 2016- 2017, 2017-2018, 2018-2019; y en Navidad, Nuevo León (Loc 3), en los ciclos otoño- invierno de los años 2016-2017.

Se realizó la preparación de terreno y método de siembra en cada ciclo y localidad conforme a la metodología descrita en la primera etapa del estudio: con la densidad de siembra de 120 kg ha<sup>-1</sup>, bajo el diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, de acuerdo con Zar (1996), aplicando la fertilización de 120-80-00 unidades de nitrógeno, fósforo y potasio respectivamente, y realizando el mismo manejo y dosis de control de malezas.



También se llevaron a cabo tres riegos: el primero al día siguiente de la siembra, con el 50 % de la dosis de fertilización; el segundo riego a los 30 días después de la siembra, aplicando el resto de la dosis, y el último riego de auxilio a los otros 30 días.

Para la determinación del rendimiento y calidad de semillas, se consideraron las localidades: Zaragoza, Coahuila (Localidad 2) de los ciclos de producción otoño- invierno de los años 2016-2017, 2017-2018, y de Navidad, Nuevo León (Localidad 3) del ciclo de producción 2016-2017, una vez llegada la madurez fisiológica y el punto óptimo de cosecha de los 25 materiales genéticos a los 125 días después de la siembra, se realizó la cosecha de semilla, se trilló y limpió con una maquina Clipper; se trasladó la semilla de cada material al laboratorio de la UAAAN.

En la determinación del rendimiento y calidad de forraje, se consideraron las localidades: San Pedro de las Colonias, Coahuila (Loc 1) y Zaragoza, Coahuila (Loc 2) del ciclo otoño-invierno del 2018-2019. Se realizó un muestreo a los 90 días después de la siembra, haciendo un corte de muestra de 0.5 m lineales de un surco central de cada parcela por material y fueron enviadas al laboratorio para su correspondiente análisis de calidad.

#### 6.2.3.3 Variables evaluadas de campo en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Se determinaron las variables de campo descritas en la etapa 1: *Temperatura de dosel* (TEMP), *altura de planta* (ALT), *índice de vegetación diferencial normalizado* (NDVI), *índice de contenido de clorofila* (ICC) y *rendimiento de forraje en materia seca* (REND). Así como la *etapa fenológica* (ETAPA) y *cobertura de terreno* (COB).

*Etapa fenológica* (ETAPA). Se evaluó a mitad de parcela según la escala de Zadoks *et al.* (1974), basada en las etapas o estaciones morfológicas del crecimiento de las plantas de cereales.

*Cobertura de terreno* (COB). Se evaluó en base al análisis de la extensión de la vegetación con respecto al recubrimiento de terreno de manera visual y expresada en porcentaje de cobertura de cada parcela, según Cook y Box (1961).

#### 6.2.3.4 Variables evaluadas de laboratorio en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Evaluación del rendimiento y calidad de semilla. Se evaluó la calidad mediante la metodología de la International Seed Testing Association (ISTA, 2009) y Association Official Seed Analysts (AOSA, 1992), determinando el rendimiento de semilla, los parámetros de calidad física de la semilla y los parámetros de la calidad fisiológica.

*Rendimiento de semilla (RENDS)*. Se cosechó la semilla de dos surcos centrales de cada parcela por material genético, se limpio y registró su peso en kilogramos, y posteriormente, se realizó la conversión y estimación en  $t\ ha^{-1}$ , para determinar el rendimiento de semilla.

La calidad física; consistió en evaluación del contenido de humedad de la semilla, peso volumétrico y peso de mil semillas.

*Contenido de humedad (CH)*. Se llevó a cabo por el método indirecto, mediante un determinador Dickey-john<sup>TM</sup>, Modelo GAC 2000, con tres repeticiones por cada genotipo y registrando el valor en porcentaje.

*Peso volumétrico (PV)*. Se determinó mediante un equipo electrónico, marca Dickey-john<sup>TM</sup>, Modelo GAC 2000, registrando en kilogramos por hectolitro ( $kg\ HL^{-1}$ ).

*Peso de mil semillas (PMS)*. La prueba consistió en contar manualmente y al azar ocho repeticiones de 100 semillas de cada genotipo, conforme a la ISTA (2009), y se pesó cada repetición en una balanza analítica Ohaus de 0.0001 gramos de precisión, se promedió y multiplicó por 10, registrando en gramos.

La calidad fisiológica, se evaluó mediante pruebas de germinación y vigor de semillas; en la primera se determinó con la prueba de capacidad de germinación, determinando las variables de plántulas normales, anormales y semillas sin germinar, y el vigor, con la evaluación del crecimiento de plántulas normales y una prueba de estrés, evaluando la capacidad de germinación y crecimiento de planta después del tratamiento de estrés.

*Capacidad de germinación*. Se determinó en 300 semillas por genotipo, sembrando tres repeticiones de 100 semillas por cada uno, entre papel “anchor” enrolladas de manera a formar un “taco”, y fueron colocadas en una cámara germinadora

(Lab-Line) a 25 °C, con 16 horas luz y 8 oscuridad, acuerdo a la ISTA (2009). La evaluación se hizo a los 7 días de exposición, determinando los porcentajes de germinación en *Plántulas Normales* (PN), *Plántulas Anormales* (PA) y *Semillas sin Germinar* (SSG).

*Vigor.* Se determinó mediante tres variables de crecimiento de plántulas: *Longitud Media de Plúmula y Radícula* (LMP y LMR), así como *tasa de crecimiento de plántula* (*Peso Seco*, PS), descritas en el manual de pruebas de vigor (AOSA, 1992), con tres repeticiones de 50 semillas por genotipo en cada variable. La semilla se sembró entre papel “anchor”, enrollando a formar un “taco” y fueron colocadas en una cámara de germinación (Lab-Line) a 25 °C en oscuridad, a los 7 días después de la siembra.

Para las variables LMP y LMR, se midieron la plúmula y la raíz principal de cada plántula normal resultante de cada repetición, con un escalímetro y se registró el valor en centímetros por plántula normal (cm pl<sup>-1</sup>) por cada variable.

Una vez medidas las plántulas normales de cada repetición, se secaron a 65°C por 24 horas, se enfriaron, pesaron y se calculó el PS mediante la siguiente fórmula, registrando el valor en miligramos por plántula normal (mg pl<sup>-1</sup>).

$$PS = \frac{\text{Peso de plántulas normales (mg)}}{\text{Número de plántulas normales}}$$

Así mismo, para contribuir con el índice de selección de los genotipos se utilizó una prueba fisiológica de estrés, de *Envejecimiento Acelerado* (EA), de acuerdo con la metodología de la AOSA (1992); sometiendo 200 semillas de cada material genético en una cámara de envejecimiento acelerado (ENVEJE VWRS SCEINTIFIC), a una temperatura de 42 °C, con una humedad relativa de 95%, por 48 horas, y al final del proceso, se realizaron las pruebas de capacidad de germinación y vigor de las semillas envejecidas utilizando las metodologías de cada variable antes descritas.

Evaluación del rendimiento y calidad de forraje. Se cosecharon dos muestras de cada genotipo seleccionado a los 90 dds, de manera manual con ayuda de una hoz

haciendo un corte a 5 cm sobre la superficie del suelo de 0.5 m de un surco de cada parcela en competencia completa.

Las primeras muestras, se utilizaron para la determinación del rendimiento de forraje de la parcela útil, registrando el peso de forraje fresco y, luego se secó en un asoleadero techado hasta alcanzar un peso constante y se registró nuevamente el peso para calcular el *rendimiento de forraje* (REND) en t ha<sup>-1</sup>.

Las segundas muestras de cada genotipo se trasladaron al laboratorio, donde se llevó a un secado parcial en una estufa de aire forzado a 65 °C por 24 horas. Posteriormente, fueron molidas en un molino Wiley® con malla de 1 mm.

A las muestras molidas se les determinó el contenido de materia seca total a 105 °C por 12 h, para expresar el contenido de nutrientes en base a materia seca (% MS).

Después, las muestras se dividieron en tres submuestras (repeticiones), para la determinación de las variables: *Proteína cruda* (PC, %), *Fibra detergente ácido* (FDA, %), *Fibra detergente neutro* (FDN, %), *Carbohidratos no fibrosos* (CNF, %), *Almidón* (ALM, %), *Grasa cruda* (GC, %), *Cenizas* (CZAS, %), *Fósforo* (P, %), *Calcio* (Ca, %), *Magnesio* (Mg, %), *Potasio* (K, %), *Cloruros* (Cl, %) y *Azufre* (S, %), se realizó mediante espectrometría en el infrarrojo cercano (NIRS, Near InfraRed Spectroscopy).

Los espectros fueron tomados con un espectrómetro NIRSystems 5000 (FOSS, Inc. Laurel (MD), USA) en modo de reflectancia, a longitudes de onda entre 400 y 2500 nm.

Además, se determinaron las variables: *Digestibilidad in vitro* (DIG, %), *Total de nutrientes digestibles* (TND, %), *Energía neta de lactancia* (ENL, Mcal Kg<sup>-1</sup>), *Energía neta de mantenimiento* (ENM, Mcal Kg<sup>-1</sup>), *Energía neta de ganancia* (ENG, Mcal Kg<sup>-1</sup>), *Valor relativo de forraje de la FDN dada en 30 horas* (VRF); *Calidad relativa de forraje* (CRF, %), *Litros de leche* (LECHE, L de materia seca), a través del sistema de predicción para rumiantes por la *Foundation for ruminant energy según Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (NCR, 2001).

#### 6.2.3.5 Análisis estadístico en la selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Los datos registrados de las variables de la segunda etapa, sobre la calidad de semilla de los 25 materiales genéticos, fueron analizados con el paquete Statistical Analysis System (SAS, Ver 6, 2009), obteniendo los cuadrados medios y niveles de significancias mediante un diseño de parcelas divididas, identificando como parcela grande (Loc) y chica (Geno). Así mismo, se realizaron pruebas de comparación de medias, utilizando la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS),  $\alpha \leq 0.01$  entre fuentes de variación e interacciones localidades por genotipos (Loc\*Geno).

La información a través de las localidades, se analizó mediante un análisis de bloques al azar combinado entre localidades para detectar la asociación entre medias de las variables y genotipos. Se usó un análisis de componentes principales y análisis de conglomerados.

Con respecto a los datos registrados de las variables de la segunda etapa, sobre la calidad de forraje de los 15 materiales genéticos, se promediaron las dos localidades consideradas repeticiones y, con el resultado de las medias de cada variable; se analizó la asociación entre las variables de campo y de calidad nutritiva de forraje, todas evaluadas a los 90 días después de la siembra, así como en los genotipos seleccionados en base a la estabilidad del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla, mediante un análisis de componentes principales y análisis de conglomerados (Manly, 1986).

#### 6.2.4 Etapa 3. Respuesta de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje

##### 6.2.4.1 Material genético en la adición de nitrógeno

El análisis conjunto de la información generada de las etapas 1 y 2, en condiciones de manejo normal, permitió seleccionar a las mejores líneas progenie en base a la estabilidad del carácter *stay green*, en el rendimiento y calidad tanto de forraje, como de semilla. Sin embargo, por cuestiones de presupuesto se tomó la decisión de continuar

con la evaluación de las diferentes dosis de fertilización nitrogenada en la línea progenie CANI-85 (G11) y como testigo el progenitor, la variedad GABYAN95 (G23) ambas cebada forrajeras imberbes, para evaluar la eficiencia e impacto del carácter *stay green* en la producción de forraje y la calidad de semilla.

#### 6.2.4.2 Establecimiento en campo de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno

Se llevó a cabo la producción de forraje y semillas en las localidades: Zaragoza, Coahuila (Localidad 2) y Navidad, Nuevo León (Localidad 3), el ciclo Otoño-invierno del año 2018- 2019 (Figura 6.6).

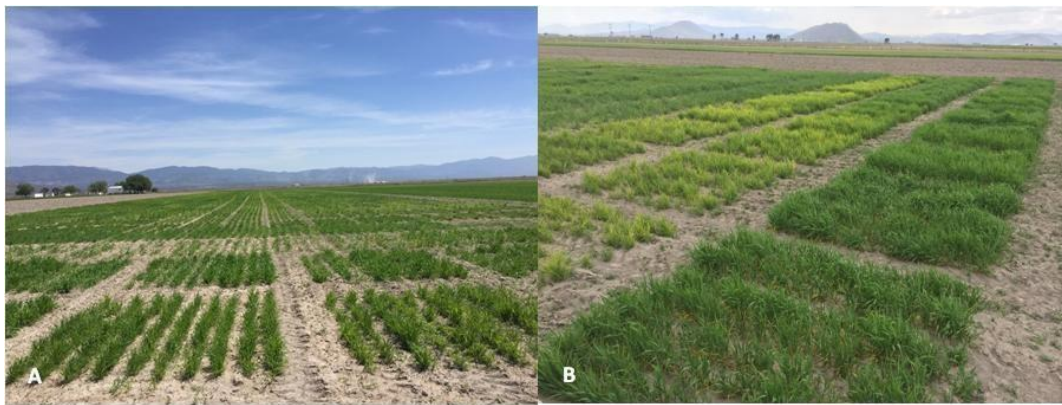


Figura 6.6 Establecimiento de la evaluación de respuesta en la adición de nitrógeno de CANI-85 y GABYAN95 (etapa 3). A) Zaragoza-Coahuila. (Loc 2), B) Navidad-Nuevo León (Loc 3), ciclo 2018-2019

Se prepararon los terrenos de ambas localidades conforme a las labores tradicionales para el establecimiento de cereales de grano pequeño en condiciones de riego, sembrando manualmente los dos materiales genéticos en suelo húmedo, a una densidad de siembra de  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  en parcelas de 6 surcos de 3.0 m de longitud, espaciados a 0.3 m, mediante un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones, donde cada parcela fue considerada una repetición de acuerdo con Zar (1996).

### 6.2.4.3 Tratamientos aplicados en genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno

Se emplearon diferentes tratamientos basados en dosis de fertilización nitrogenada, descritas en la Tabla 6.4, aplicando sulfato de amonio ( $\text{NH}_3\text{SO}_4$ ) como la fuente de nitrógeno en dosis de kilogramos de  $\text{N}_2$  por hectárea, más fosfato de amonio dihidratado ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (MAP)) como fuente de fósforo, aplicando 80 Kg P por hectárea, teniendo por cada material genético, cinco dosis, tres repeticiones por localidad.

Tabla 6.4 Dosis de fertilización nitrogenada ( $\text{N}_2$ ) y fósforo (P) en dos cebadas forrajeras imberbes en dos localidades, en el ciclo O-I, 2018-2019

<b>Dosis (Kg N ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>Dosis (Kg P ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>Localidad*</b>
00	80	3
60	80	2 y 3
120	80	2 y 3
180	80	2 y 3
240	80	2 y 3
300	80	2

\*Localidad 2= Zaragoza-Coahuila y Localidad 3= Navidad-Nuevo León.

En cada tratamiento, se aplicó un 50 % de la dosis de nitrógeno y el 100% de dosis de fósforo al momento de la siembra y en el primer riego; y a los 30 días después, se aplicó el segundo riego con el resto de la dosis de nitrógeno y, a los 60 días después de siembra se aplicó un tercer riego.

En esta etapa 3, también se llevaron a cabo labores de campo en el control de malezas, sin aplicación de insecticida o fungicida y haciendo deshierbes manuales.

### 6.2.4.4 Variables evaluadas en campo de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno

Se realizaron tres muestreos en ambas localidades a los 75, 90 y 105 días después de la siembra, indicados como días de muestreo (DM), evaluando en cada muestreo a mitad de cada parcela: la *altura de la planta* (ALT), la *temperatura de dosel* (TEMP), el

*índice de vegetación diferencial normalizado* (NDVI), el *índice de contenido de clorofila* (ICC), la *etapa fenológica* de la planta (ETAPA) y la *cobertura del terreno* (COB) descritas anteriormente.

#### 6.2.4.5 Variables evaluadas en laboratorio de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno

A los 125 días después de la siembra, una vez llegada la madurez fisiológica de semilla y el punto óptimo de cosecha de los materiales genéticos de cada tratamiento, se realizó la cosecha, trilla y limpieza de la semilla; en esta actividad de limpieza, se utilizó una cribadora Clipper con una zaranda tipo oblonga de 1.6 x 9.5 mm. Posteriormente, se trasladaron todos los materiales genéticos al laboratorio, y se procedió a la evaluación de rendimiento y calidad de semilla, procedimientos que se describieron en la etapa 2 anterior, considerando las variables: *contenido de humedad* (CH), *peso volumétrico* (PV), *peso de mil semillas* (PMS), *rendimiento de semilla* (RENDS), *plántulas normales, anormales y semillas sin germinar* (PN, PA y SSG), así como la *longitud media de plúmula y la radícula* (LMP y LMR), por último el *peso seco de plántula* (PS).

#### 6.2.4.6 Análisis estadístico de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje

Los datos obtenidos en la producción de forraje en campo bajo fertilización nitrogenada, se analizaron con el paquete Statistical Analysis System (SAS, Ver 6,2009), mediante un diseño trifactorial con anidamiento combinado entre localidades (Loc), donde los factores fueron: Genotipos (Geno), Días de muestreo (DM) y Dosis de fertilización nitrogenada (D) la cual se consideró anidada o confundida.

Y para la comparación de medias de estas variables registradas en el experimento, se utilizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS), a un nivel de significancia  $\alpha \leq 0.05$ , teniendo entre las fuentes de variación e interacciones DM por Loc, Geno por Loc, Geno por Dm por Loc, Geno dentro de D, Geno por Loc dentro de D, Días de muestreo dentro de D, Geno por Dm por Loc dentro de D.



Para determinar el tipo de efecto que provocaron las dosis de fertilizantes, se realizaron análisis de regresión y se obtuvo su función de respuesta, en caso de que la respuesta fuera cuadrática empleando la técnica de la segunda derivada (Briones *et al.*, 2009), para obtener así su máximo o mínimo según el tipo de ecuación. Adicionalmente se exploró la respuesta sobre los días a muestreo con la superficie de respuesta (Yaguas, 2017).

#### 6.2.5 Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada

##### 6.2.5.1 Ubicación y material genético en la genotipificación

El estudio de genotipificación de los materiales genéticos se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en el Laboratorio de Biociencias, Servicio de Análisis Genético para la Agricultura (SAGA).

Se estudiaron las 10 líneas progenies seleccionadas en la etapa 2, considerando a dos testigos, la variedad comercial Cerro Prieto (G22), por ser una cebada con aristas y de tipo maltera y la variedad GABYAN95 (G23), por ser el progenitor hembra de las progenies en estudio, con características sin aristas, *stay green* y de tipo forrajero. Además, con el fin de completar el cuadro de la genealogía de las progenies, se incluyó al progenitor macho, la variedad comercial Esperanza, como se describe en la Tabla 6.5.

Tabla 6.5 Materiales genéticos selectos para la genotipificación mediante microarreglos por Dartseq

No. de genotipo	Descripción	Nombre
G2	Cebada imberbe/SG	CANI-9-14
G4	Cebada imberbe/SG	CANI-15-14
G3	Cebada imberbe/SG	CANI-10-14
G10	Cebada imberbe/SG	CANI-82-14
G11	Cebada imberbe/SG	CANI-85-14
G12	Cebada imberbe/SG	CANI-99-14
G14	Cebada imberbe/SG	CANI-104-14
G15	Cebada imberbe/SG	CANI-108-14
G18	Cebada imberbe/SG	CANI-129-14
G19	Cebada imberbe/SG	CANI-130-14
G3	Cebada imberbe/SG	CANI-10-14
G22	Cebada, barbada/maltera	Cerro prieto
G23	Cebada imberbe/SG/ Progenitor hembra	GABYAN95
G26	Cebada, barbada/maltera/Progenitor macho	Esperanza

CANI= Cebada Antonio Narro Imberbe.

### 6.2.5.2 Proceso en la genotipificación de progenies

Para llevar a cabo el estudio, se realizó la siembra de 10 semillas por material genético para obtención de plántula, en charolas de poli-estireno con suelo estéril, colocando una semilla de cada material por cavidad, y se llevaron a una condición de invernadero a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , con una humedad relativa de 40 %, con el fotoperiodo de medio ambiente 9/15 h y  $25/13^\circ\text{C}$  día/noche, y se realizaron dos riegos a saturación de suelo, uno al momento de la siembra y otro a los cinco días después.

Una vez germinada la plántula, se realizó la genotipificación de los materiales, que consistió en: La extracción y evaluación de la calidad del ADN, la reducción de la complejidad del ADN, una amplificación selectiva mediante la reacción en cadena de la polimerasa ((Polymerase Chain Reaction, siglas en inglés PCR), evaluación de la calidad de PCR (conocidos como “targets”), la purificación y cuantificación de los targets, y por último la secuenciación.

*Extracción de ADN.* Para este proceso, se consideró un cuarto de hoja de plántula de 15 días de germinación en invernadero, previamente liofilizada y molida de cada genotipo; se realizó la extracción de ADN genómico según la metodología CTAB(Doyle and Doyle, 1990) modificado por Baloch (2017), aplicando una solución stock (Tris pH 7.5 1M; NaCl 5M, EDTA pH 8.0, CTAB y Mercaptoetanol), reteniendo el sobrenadante y añadiendo cloroformo:octanol (24:1). Posteriormente se realizaron tres lavados: uno con isopropanol y dos con etanol al 70%.

Se determinó la calidad y cantidad de las muestras de ADN genómico, utilizando 2  $\mu\text{l}$  de muestra en buffer ER (Buffer de enzimas de restricción), incubado a  $37^\circ\text{C}$  durante 2 horas, mediante electroforesis horizontal con gel de agarosa al 1%, a 120 volts por 24 min, esperando tener bandas gruesas y con un alto número de pares de bases.

*Reducción de complejidad.* Se realizó mediante la adición de una solución Mix que consistió en: la enzima de restricción HpaII, de corte frecuente para la digestión (Griffiths *et al.*, 2002), Re buffer, BSA, ATP, T4 DNA ligasa, adaptador común y adaptador de barcode. Este último es una secuencia de nucleótidos a fin al sitio de corte de la enzima secundaria, que actúa como “un código de barras”, y que permite identificar cada muestra de ADN, perteneciente a cada fragmento genómico obtenido de

la digestión. La mezcla se incubó en un termociclador por un periodo de 2 horas a 37°C y 20 min a 60°C.

*Reacción de PCR (amplificación selectiva).* Se realizó la amplificación de los fragmentos de ADN mediante una reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Utilizando un replicador, se tomaron e incubaron 2 µl de cada muestra procesada del proceso digestión-ligación, más una mezcla de PCR (Buffer de PCR, dNTPs, primers y enzima RedTaq), y se llevó al termociclador durante 30 ciclos de 20 seg a 94°C, 30 seg a 58°C y 45 seg a 72°C, con un ciclo inicial de 1 min de a 94°C para la desnaturalización, y un ciclo final de elongación de 7 min a 72°C y tener un tiempo de reposo de 5 min a 10°C.

*Calidad de PCR (targets).* Después de la amplificación, se evaluó la calidad de los fragmentos (targets) a través de electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.2%, considerando obtener un pequeño barrido de ADN, demostrando un rango de tamaño de diferentes fragmentos y uniformes en intensidad.

*Purificación y cuantificación.* Se realizó el agrupamiento de los targets en una sola solución, y a estos conglomerados de muestras de ADN se les denominó pools, conteniendo 25 µl de cada target, y se purificaron con un kit comercial, Se realizó un control de calidad del pool en gel de agarosa al 1.2%, y se verificó nuevamente el barrido que comprendió en los fragmentos de diferentes tamaños, para comparar con las muestras estándar secuenciadas.

*Secuenciación Novaseq™ 6000.* Se realizó una dilución de pool a obtener 0.7nM, utilizando buffer RSB, se diluyó en NaOH al 2N más Tris-HCl de 1000mM, para desnaturalizar, y se colocó en el equipo Novaseq™ 6000 Illumina, con un tiempo de secuenciación de 23.17 horas, Clusters passing filter de 79.80%, producción de 83.56 Gb y Q30 de 94.36%.

### 6.2.5.3 Emisión de datos y análisis de datos en la genotipificación

La información emitida por el Novaseq 6000, fue procesada mediante la plataforma Dartseq™, generando los datos: SNPs y SiclicoDArt. Los marcadores SNP

son nucleótidos polimorfismos presentes en los fragmentos de restricción, mientras que los marcadores SilicoDArT representan el PAV de la restricción de fragmentos.

Se determinó la calidad de los marcadores SNPs, en base a la caracterización y calificación de los polimorfismos, normalmente es del 70 a 80%, se identificaron los de mejores cualidades en las propiedades como alelos con frecuencia alélica, heterocigosidad y porcentaje de datos faltantes, así como los marcadores SNP codominantes se indicaron con "0" (homocigoto alelo de referencia), "1" (alelo SNP homocigoto) y "2" (heterocigoto: presencia de alelos tanto de referencia como de SNP).

Una vez obtenida esta matriz, la plataforma Dartseq<sup>TM</sup> genera otra matriz denominada SilicoDArT, básicamente identifica los marcadores dominantes, indicados en forma binaria, con "1" que representa la presencia del fragmento de restricción con el marcador secuencia y "0" designando su ausencia.

La frecuencia se determinó para obtener la proporción de cada alelo marcador en relación al total de marcadores, calculando los alelos de menor frecuencia (AMF), los cuales se refieren a la proporción de un alelo menos común dentro de un locus de una población determinada.

Se realizó una distribución de los marcadores sobre los 7 cromosomas de cebada; se estimó la cantidad de marcadores que se reconocen en cada cromosoma, dependiendo de las características: Heterogeneidad, AMF, datos perdidos o ausentes y el contenido de información polimórfica (Polymorphic Information Content).

Todos los datos generados del secuenciador fueron introducidos en el paquete BIO-R (Biodiversity analysis with R for Windows) Versión 2.0 (Pacheco *et al.*, 2016), para el análisis de coordenadas principales (PCoA), construyendo una matriz de distancia de alelos compartidos entre individuos de acuerdo con Gao & Starmer (Gao & Starmer, 2008; Nakamura *et al.* 2005). La máxima distancia de alelos compartidos fue de 2, y la mínima distancia fue de 0.

Así mismo, dentro de los resultados generados por el DArtseq, también se reportó el total de SNPs, generando la media en una sola línea denominada "One-row", y se consideró el 80 % de calidad de marcadores SNPs, de los cuales se analizaron a través de componentes principales en el paquete BIO-R (Biodiversity analysis with R for Windows) Versión 2.0 (Pacheco *et al.*, 2016).

Aunado a ello, se generó una matriz de dominancia y heterocidad de estos SNPs de calidad, indicando los marcadores SNPs codominantes mediante barra de colores, homocigoto-dominante “0” (color verde), Heterocigoto “2” (color rojo), homocigoto-recesivo “1” (color naranja), y las secuencias del genotipo que no registró el Dartseq (color blanco).

De la matriz de dominancia y heterocidad, se diseñó otra matriz, en base a las frecuencias de SNPs de los cromosomas 2H, 3H, 4H, 5H y 6H, y otras secuencias que no se identificaron en un cromosoma en específico (ChrUn), con la finalidad de identificar únicamente los SNPs de alelos homocigoto-dominantes (“0”) en las progenies y el progenitor GABYAN95, los SNPs heterocigotos (“2”) y los SNPs homocigoto-recesivos (“1”) en la variedad Cerro prieto y el progenitor Esperanza.

#### 6.2.5.4 Secuencias involucradas en la fotosíntesis y *stay green* de *Hordeum vulgare* L. en la genotipificación

Dadas las frecuencias dominantes, se procedió a seleccionar secuencias de aminoácidos de biomoléculas con funciones en el proceso de fotosíntesis de la especie *Hordeum vulgare*, las plataformas de búsqueda fueron NCBI GenBank y Uniprot identificadas en la Tabla 6.6

Algunas de ellas se transcribieron a nucleótidos, utilizando la herramienta EMBOSS Backtranseq proporcionada por *European Bioinformatics Institute*.

Asimismo, se realizó un alineamiento de pares de secuencias de los nucleótidos SNPs encontrados por el Dartseq<sup>TM</sup> dominantes homogéneos con las secuencias nucleotídicas de las biomoléculas (Tabla 6.6), mediante el programa BLASTn dentro del programa general de BLAST, determinando la homología como especie, identificando la similitud de secuencias de nucleótidos con características físico-químicas análogas y para detectar si se pudiera tratar de la misma biomolécula, por el número de SNPs y porcentaje de coincidencia en las secuencias.

Tabla 6.6 Identificación de biomoléculas, secuencia de aminoácidos y nucleótidos involucradas en la fotosíntesis

Biomolécula	Secuencia de aminoácidos	Secuencia traducida a nucleótidos	Referencia
<b>ATP sintasa</b> GenBank: A1E9I5.1	ATGAACATCATCCCCTGCTCCATCAAGACCCTCAAGGGCCTCTA CGACATCTCCGGCGTGGAGGTGGGCCAGCACTTCTACTGGCAG ATCGGCGGCTTCCAGATCCACGCCAGGTGCTCATCACCTCCTG GGTGGTATCACCATCCTCCTCGGCTCCGTTGGTATCGCCGTGC GCAACCCGACAGACATCCCAGCCGACCGCCAGAACTTCTTCGA GTACGTGCTCAGATTCATCCGCGACCTCTCCAAGACCCAGATCG GCGAGGAGTACGGCCCGTGGGTGCCGTTTCCATCGGCAACATGTT CCTTCTCATCTTCGTGTCACCTGGTCCGGCCCTCCTCCCGTG GAAGATCATCGAGCTCCCGACGGCGAGCTCGCCGCCCGGAC AACGACATCAACACCCTGGCCCTCGCCCTCCTCACCTCCGCG CGCTACTTCTACGCGGCTCTCCAAGAAGGGCCTCTCCTACT TCGAGAAGTACATCAAGCCGACCCGATCCTCCTCCCGATCAA CATCTCGAGGACTTCAACCAAGCCGCTCCTCCTCCTTCCGCC TCTTCGCAACATCCTCGCCGACGAGCTCGTGGTGGTGGTGCCT GTGCCCTCGTGGCGCTCGTATCCCGATCCCGGTGATGTTCT CGGCTCTTCACTCCGGCATCCAGGCCCTCATCTTCCGCCACC TCGCCGCCGCTACATCGGCGAGTCCATGGAGGGCCACCAC	MNIIPCSIKTLKGLYDISGVEV GQHFYWQIGGFQIHAQVLITS WVVITILLGSVVIAVRNPQTIP TDGQNFVEYVLEFIRDLSKTQ IGEEYGPWVPPFGTMTLFLFVVS NWSGALLPWKIHLPHELGA APTNDINTTVALALLTSAAYF YAGLSKKGLSYFEKYIKPTPI LLPINILEDFTKPLSLSFRLFQ NILADELVVVVLSLVLPLVIPI PVMFLGLFTSGIQAALIFATLA AAYIGESMEGHH	Zeng <i>et al.</i> , 2019 Nyima <i>et al.</i> , 2019
<b>Cytocrome b6</b> GenBank: ABK79441.1	ATGTCCATGAAGTTCCTACACCCGCTCCGCGCGCGCCGCGG CCTCGTACCTACCAACAGGTGTACGACTGGTTCGAGGAG CGCCTCGAGATCCAGGCCATCGCCGACGACATCACCTCAAGT ACGTCCCGCCGACGTGAACATCTTACTGCTCGCGCGCATC ACCCTCACCTGCTTCTCGTGCAGGTGGCCACCGGCTTCGCCAT GACCTTCTACTACCGCCGACCTGACCGAGGCTTCTCCTCCG TGCAGTACATCATGACCGAGGCCAACTTCGGCTGGCTCATCCG TCCGTGACCCGCTGGTCCGCTCCATGATGGTGCATGATGAT CCTCCACGTGTTCCGCGTATCTCACCGCGGCTTCAAGAAGC CGCGCGAGTCACTGGGTGACCGGCGTGGTGCCTGCCGTGCT CACCGCTCCTTCGGCGTGACCGGCTACTCCTCCCGTGGGACC AGATCGGCTACTGGCCGTGAAGATCGTGACCGCGGTGCCGGA CGCCATCCCGGTGATCGGCTCCCGCTCGTGGAGCTCCTCCGCG GCTCCGCTCCTCGGGCCAGTCCACCTCACCGCTTCTACTCC CTCACACCTTCGTGCTCCGCTCCTCACCGCGTTCATGCTC ATGCATCTCCGATGATCCGCAAGCAGGGCATCTCCGGCCGCT C	MSMKFSYALRGGRLVTV LNKVYDWFEERLEIQAIADDI TSKYVPPHVNIFYCLGGITLT CFLVQVATGFAMTFYRPTV TEAFSSVQYIMTEANFGWLIR SVHRWSASMMVLMMLHVF RVYLTGGFKPRELWVTGV VLAVLTAASFGVTGYSLPWDQ IGYWAVKIVTGVDAIPVIGS PLVELLRGSASVQSTLRFY SLHTFVLPLLTAVFEMLMHFP MIRKQGISGPL	
<b>Phosphoenol                      pyruvate</b> GenBank: CCU7528.1	ATGGAGCCGTGTCCTGGACATCGTGGAGGTGCGCGCCAAGT CCGGCTCATCACTACTGCAAGGTGAAGGACCGCGAGGGCTT CCGCGCCGTGGCGAGGAGGAGAAGGGCGGCATCCCGGCCA GGAGCAGGTGAACGGCGCCCTCGACTGCACCGACCGCGACCCG GCCCGATCCTCATGCAGAACTGCTTACATCACCCGTGATCTC CATCGACCAGGACCTCCGCTCAAACCGCCACGCCCGCCGCTCT TCCTCGTCCGAGGAGAAGGAGCGCCGCGACGTGACGACCT CAACCGCATCTTCCCGCTCCAGTCCGACATCAAGTCTCTCC CGATCAAGGAGCACACCCGCTCGAGGAGGAGTCCACGACAA CGCCACATCGACTACGACCGGTGGCCATCGTGCCGAACCCG TCCGTGGCCGTGCTTACGAGGACCGCCCTCGTTCGAGACCCG CACCGCATCACTCCACCGCGCCCTCACCGCTACTCCGGCC TCAAGACCGGCCGCTCCCGCAGGACAAGCGCATCTGTAAGGA GCCGTCTCCGAGGACGACATCTGGTGGGGCCCGGTGAACAAG CCGATGACCCCGAGGTGTGGCGCATCAACCGCGAGCGCGCA TCGACTACTCAACACCCGACCCGATCTACGTGGTGGACGG CTACGCCGCTGGGACAGAACTACAGATCAAGGTGCGCATC GTGTGCCCGCGCCTACACCGCCCTTTCATGCGCAACATGCT CATCCGCGCGGAGGCGGAGGACTCGCCAGTTCAGCCGGAC TACACATCTACAACCGCGCTCCTCCCGGCCAACCGCTACAC CTCCGGCATGACCTCCGCCACTTCCATCGCCATCAACTTCGCCG ACAAGGAGATCGTATCTCGGCACCGAGTACGCCGGCGAGAT GAAGAAGGGCGTGTACCATCTCTTCTACGAGATGCCGGTG AAGTACAACGTGCTACCCCTCCACTCCTCCGCCAACGAGGGCA AGGACGGCGAGTACCCCTTCTTCGGCCTCCTCCGGCACCGGC AAGACCCTTCCCGCCGACCCGCTCCGCGCCCTCATCGGGA CGACGAGCACTGCTGTCGAGAGAACCGCATCTTCAACATCGAG GCGGCTGCTACGCCAAGTGCCTCGGCTTCCGTTGGAGAAGG AGCCGGAGATCTTCGGCGCATCAAGTTCGGCGCCGTGCTCGA GAACGTGGTGTCTCCCGGAGACCGCTTCTGGGACTACGAG GACTCCACCTCACCGAGAACACCCGCTGCGCCTACCCGATCG ACCACATCGTGAACGCCAAGATCCCGTGCCTGTCATCGACCA CCCGCGAACATCATCTCTACCTGCGACGCTCCCGCGGTGC TCCCGCGATCTCAAGTCAACTCCGCCAGGTGATGTTCCAC TTCATCTCCGCTACACTCCAAGATGACCGGCACCGAGGACG GCGTGACCGGAGCCGAGGCCACTTCTCCGCTGCTTCCGCCAG CCGTTCCTCGCCCTCACCCGATGCGTACGCCGAGATGCTCGC CGAGAAGATCGAGAACCACCGGCCAACCGCTGGCTCCTCAAC ACCGGTGGTGGGCGCCCGCCACTCCCGCGGCCAGCGCT GCCCGCTCAAGTACACCGCGCCATCCTTCCGCCATCCACTCC GCGGAGCTCACAAGGCTCCTACGAGACCTACGAGACCTTCA ACCTCGAGGTGCGACCTCCTGCTCCGGCGTGGCTTCAACTC CTCAACCCCGCAACCGCTGGACCGCGGCCAACTCCTTCG GCGAGGAGGTGGCCCGCTCGGCGCCCTTTCATCAAGAACTT CGAGAAGTACTCCGGCGAGGTGCCGAGCTCGTGAAGTCCGCC GGCCGAAGTCTC	MEAVSVDIVEVRAKSLITY CKVKDREGFRAVEEEKGGI RAQEYVNGALDCTDRDPAPI LMQNCFTTVISIDQLDRSNR HARALFLVNEKERRDVIDL NRILSPLQSDIKSSPIKEHTRL EEELHDNAHIDYDRVAIYVNP SVAVLYEDALVETGTAITST GALTAYSGLKTRSPQDKRI VKEPSEDDIHWGPVKNPMT PEVWRINRERAIYLNRRRI YVVDGYAGWDQYQIKVRI VCARAYHALFMRNMLIRPER EDLAQFQPDYTIYNAGSPPA NRYTSGMTSATSIAINFADKE IVILGTEYAGEMKKGVFTILF YEMPVKYNVTLHSSANEKG DGDVTLFFGLSGTKTTLA DPLRALIGDDEHCWSEGNFN IEGGYAKCLGLSVEKEPEIF GAIKFGAVLENVVFAETRF VDYEDSTLTENTRCAYPIDHI VNAKIPCVIDHPRNILLTCD ASGVLPPISKLSNAQVMFHF SGYTSKMTGTEDGVTEPQAT FSACFAQPLALHPMRYAEM LAEKIENHRANAWLLNTGW VAAAATSGGQRCPKYTRAI LSAIHSSELTKASYETETFN LEVPTSCSGVPSNLLNPRNA WTAGGNSFGEVVARLGFALFI KNFEKYSGEVSELVKSAGPK L	Spanu <i>et al.</i> , 2010

<p><b>rbcL</b> (Rubisco) GenBank: AUR29694.1</p>	<p>AAGGCCGGCGTGGGCTTCCAGGCCGGCGTGAAGGACTACAAGC TCACCTACTACACCCGGAGTACGAGACCAAGGACACCGGACAT CCTCGCCGCTTCCGCGTGTCCCGCAGCCGGCGTCCCGCCGG AGGAGGCCGGCGCCGCTGGCCGCGGAGTCCACCGGAC CTGGACACCGTGTGGACCGACGGCTCACCTCCCTCGACCGCT ACAAGGGCCGCTGCTACCACATCGAGCCGGTGGCCGGCGAGGA CTCCAGTGGATCTGCTACGTGGCCTACCCGCTCGACCTCTTCG AGGAGGGCTCCGTGACCAACATGTTACCTCCATCGTGGGCAA CGTGTTCGGCTTAAGGCCCTCCGCGCCCTCCGCTCGAGGACC TCCGATCCCGCCGACCTACTCAAGACCTTCCAGGGCCCGCG CACGGCATCCAGGTGGAGCGGACAAGCTCAACAAGTACGGCC CCCCGCTCCTCGGTGACCATCAAGCCGAAGCTCGGCCCTCC GCCAAGAACTACGGCCGCGCTGCNNN</p>	<p>KAGVGFQAGVKDYKLYYT PEYETKTDILAAFRVSPQPG VPPEEAGAAVAASSTGTWT TVWTDGLTSLDRYKGRCYHI EPVAGEDSWICYVAYPLDLF EESVTNMFSTIVGNVFGFK ALRALRLEDLRIPTYSKTFQ GPPHGIQVEDKLNKYGRPLL GCTIKPKLGLSAKNYGRACX</p>	<p>Kuzmina <i>et al.</i>, 2017</p>
<p><b>PORA</b> UniProtKB/S wiss-Prot: P13653.1</p>	<p>ATGGCCCTCCAGCTCTCCCGTCCACCTCTCCGTGCCGAAGAA GGGCTCTCCATGGGGCGCGTGGCCGTGAAGGACACCGCCGCT TTCCTCGCGGTGTCTCAAGGCCAAGAAAGGCTCCCTCGCCGT GCGCACCAAGTGGCCACCGCCCGTCCCGGTGACCACTCC CCGGGCTCCACCGCTCTCCCGTCCGGCAAGAAGACCTCCG CCAGGGCTGGTGGTATCACCGCGCCCTCTCCGGCCTCGGC CTCGCCGCGCCCAAGGCTCTGTCCGAGACCGGCAAGTGGCAG TGGTGTGGCTGCGCGACTTCTCAAGCCTCAAGGCCCGCC AAGGCCGCGGCATGGCCGACGGCTCTACACCGTGTGCACC TCGACCTCGCTCCCTCGACTCCGTGCGCCAGTTCGTGGACGCG TTCGCGCGCCGAGATGCGGCTCGAGTGTCTGTGCAACGC CGCCATCTACCGCCGACCGCCGACCCCGACCTTACCGCCG ACGGCCACGAGATGTCGCGTGGCGTGAACACCTCGGCCACTT CCTCTCGCCGCTCTCATGGAGGACCTCCAGAAAGTCCGACT ACCGTCCCGCCGATGGTGTGATCGTGGCTCCATCACCGGCAA CTCAACACCTTCCGCGCAACGTGCGCCGAAGGCTCCCTC GGGACCTCCGCGCCTCGCCGGCGCCTCTCCGGCCTCCG GCTCCGCATGATCGACGGCGACGAGTCTTCGACGGCGCCAA GGCCTACAAGGACTCAAGGTGTGCAACATGCTCACATGCGAG GAGTTCACCGCCGCTACACGAGGAGACCGGCATCACCTTCT CCTCCTTACCGGGCTGCATCGCCACCACCGGCTCTTCCG GAGACATCCCGCTCTTCCGACCTCTTCCCGCCGTTCAGAA GTTCTGACCAAGGCTCTGTGTCGAGGCGGAGTCCGGCAAG CGCCTCGCCAGGTGGTGGCCGAGCCGGTGTCAACAAGTCCG CGGTGACTGGTCTGGAACAAGGACTCCGCTCTTTCAGAA CCAGCTCTCCAGGAGGCTCCGACCGGAGAAAGGCCCGCAAG GTGTGGGAGCTTCCGAGAAGCTCGTGGGCTCGCC</p>	<p>MALQLLPSTLSVPPKGS MGAVAVKDTAAFLGVSSK AKKASLAVRTQVATAPSP VITSPGSTASSPSGKTL RQGVVITGASSGLGLAA AKALAEFGKWHVVMACRD FLKASKAAGAAGMADGSY TVMHLDLASLDSVRQFVD AFRRAEMPLDVLVCNAAI YRPTARTPTFTADGHEMS VGVNHLGHFLARLLMED LQKSDYPSRRMIVGSI GNSNTLAGNVPPKASLGD LRGLAGLGSAGSAMID GDESFDGAKAYKDSKVCN MLTMQEFHRRYHEETGIT FSSLYPGCIATGFLFREH IPLFRTLFPFPQKVFVTKG FVSEAESGKRLAQVVAEP VLTSGVYVSWNKDSASF ENQLSQEASDPEKARKVW ELSEKLVGLA</p>	<p>Schulz <i>et al.</i>, 1989</p>
<p><b>PORB</b> UniProtKB/S wiss-Prot: Q42850.1</p>	<p>ATGGCCCTCCAGGCCGCCACTCTTCTCCGCTCCGCGCTCTC CGCCGCAAGGAGGGCGCCCAAGGACTCCGCTTCTTCGGC GTGCGCTCGCCGACGGCTCAAGCTCGACGCCACCTCCCTCG CCTCCGACCAAGCGCGTGAACACTCTCCGTGGCCATCCGG CCAAGGCCCGCGGTGTCCGCGCCGACCCCGCCCGCTCC CCGGCCGCAAGAAGACCGTGCACCGCCCAACGCCATCATCA CCGGCGCTCTCCGGCTCCGCGCTCGCCACCGCCCAAGGCCCT GCCGAGTCCGGCAAGTGGCAGCTGATCAGGCTGCGCGGAC ACCTCAAGACCGCCCGCGCCGCGCCGCGCCGCGCATGCCGAA GGGCTCTACACCATCGTGCACCTCGACTCGCTCCCTCGACT CCGTGCGCAGTTCGTGAAGAAGTGCAGCTCGACATGCC GATCGACGTGGTGGTGTGCAACCGCCCGGTGTACAGCCGACC GCCAAGGAGCCGCTTCCAGCCGACGGCTTCGAGATGTCG TGGCGTGAACACCTCGGCCACTTCTCTCGCCCGCGAGCTC CTCGAGGACCTCAAGGCCCTCGACTACCCGTCGAAGGCCCTCAT CATCGTGGCTCCATCACCGGCAACACCAACACCTCGCCGCG AACGTGCCGCAAGGCCAAGCTCGGCGACCTCCGCGGCTCG CCGCGGCTCAACGGCGTGGCTCCGCGCCATGATCGACGG CGCGAGTTCGACGGCGCAAGGCTCAAGGACTCAAGGTG TGCAACATGCTACCATGCAAGGATTCACCGCCGCTACACAG AGGAGACCGGCTGACCTTCCGCTCCCTTACCCGGGCTGCATC GCCACCACCGGCTCTTCCGCGAGCATCCCGCTCTTCCGCT CCTTTCGCGCTTCCAGAAGTACATCAACAAGGCTACGTGT CCGAGGAGGAGCCGGCAAGCGCTCGCCAGGTGGTGTCCGA GCCGTCCCTACCAAGTCCGGCGTGTACTGGTCTGGAACAAG AACTCCGCTCTTCGAGAACCAGCTTCCGAGGAGGCCCTCCG ACACCGAGAAGGCCCGCAAGGTGTGGAGCTTCCGAGAAGCT CGTGGGCTCGCC</p>	<p>MALQAATSFPLPSALSARKE GAAKDSAFFVRLADGLKL DATSLGLRTRKRVNTSSVAI RAQAAVSAPTATPASPAG KKTVRTGNAITGASSGLG LATAKALAESGKWHVIMAC RDYLTARAARAAGMPKGS YTIIVHLDLASLDSVRQFVK NVRQLDMPIDVVCNAAVY QPTAKEPSTADGFEMSVG VNHLDLGHFLARELLEDLKA SDYPSKRLIIVGSIITGNT TLAGNVPPKANLGLDRGLA AGLNGVGSAAIMDGAEDFG AKAYKDSKVCNMLTMQEFH RRYHEETGVTFASLYPGCI ATTGFLFREHIPLFRLFPFP FQKYITKGYVSEEEAGKRL AQVVSFSLTKSGVYVSWN KNSASFENQLSEASDTEK ARKVWELSEKLVGLA</p>	<p>Holtorf <i>et al.</i>, 1995</p>
<p><b>ABA</b> Ac. Abscisico GenBank: KAE8821597 .1</p>	<p>ATGGCCTTCTCTCTCTCTGATCTCTGTCGCTGGCCATC GTGCTACGCCACACGCCATCCGCGCGCCGCGCCAGGGCT GCGCCACGGCCGCGCACGAGCAGGCGCCCTCAAGCTCCCGC GGGCTCCATGGGCTCCCGTACGTGGGGGAGACCTCCAGCTCT ACTCCAGGACCGCTCGTGTCTCTCTCAAGCAGAGAAGCGC TACGGCGAGATTTCAAGACCCACTCTCGGCTGCCGTGCGT GATGCTCGCTCCCGGAGGCCGCGGCTTCTGTCTGTCGTCC GCGCCACCTTCAAGCCGACCTACCCGCGCTCAAGGAGCG CCTCATCGCCGCTCCGCTCTTCTTCCACCAAGGCGACTACC ACCTCCGCTCCGCGCTCTGTGCAAGGCCGCTCGGCCCGGA GGCCTCCGCAAGCTGTGCGGACATCGAGGCCGCGCGTGC TCCACCTCGCGCTGGGCCGACGGCGACGTGGCTCCACCTT CCAGCCTAAGAGCGCTTCTCTTCAAGTGGGCTCGTGACCA TCTTCCGGCGCCGCTCGACGAGCGCCGAAGGAGGACTCCG CCGCAACTACCGCGTGGTGGAGAAGGCTACAACCTCTTCCG</p>	<p>MAFFLLLCILVSVAINSYAHH AIRRRRQCAHGRHEQAALK LPPGSMGLPYVGETLQLYSQ DPSVFLSSKQKRYGEIFKHL LGCPVMLASPEARFVLS RAHLFKPTYPRSKERLIGPSA LFFHQGDYHLRLRLVQGPL GPEALRKLVPDIEAAYRSTLA AWADGDVASTFHAMKRLSF DVGIIVTIFGRLDERRKEELR RNYAVVEKGYNSFPNSFGPT LYYKAIQARRRLNGVLSDFV HERREREGPDDLLGLMRS RAGDDADDEGALLTDEQV ADNVIGVLFQADITASVLT</p>	<p>Zeng <i>et al.</i>, 2019 Nyima <i>et al.</i>, 2019</p>

	<p>AACTCCTCCCGGGCACCTCTACTACAAGGCCATCCAGGCCG  CCGCGCCTCAAACGGCGTGTCTCCGACGTGGTGACGACGAGCGC  CGGAGCGCGGGGAGCCGGGGGACGACCTCTCGGCTGCCTCA  TGCGCTCCCGCGCCGGCGGCGACGACGCGGACGACGAGGGGCGC  CCTCTCACCAGCAGCAGGTGGCCGACAACGTGATCGGGCGTG  CTCTTCGCGCCAGGACACCACCGCTCCGTGCTACCTGGAT  CGTGAAGTACCTCCACGACCGCCGAAGCTCTCGAGGCGGTG  CGCGCCGAGCACGCCGCTTCCACGAGGCCAACGACGCGGGCC  GCCGCCGCTCACCTGGGCCAGACCGCTCCATGACCCCTACC  CACCAGTGTATCTCGAGTCCCTCCGATGGCTCCATCATCTC  CTTACCTTCCCGAGGCGTGGCCGACGTGGAGTACAAGGGC  TTCTCATCCGGAAGGGTGGAAAGGTGATGCCGCTTCCCGCAA  CATCCACCACTCCCGGACTACTTCCAGGACCCGACAAGTTCC  ACCCGTCGCCCTCAAAGGTGGCCCGCGCCGAACACCTTACC  CCGTTCCGCTCCGGCGTGCACGCTGCCGGGCAACGAGCTCG  CCAAAGCTCGAGATGCTCGTGTCTATCCACCCTCGTGACCGGC  TACCCTGGGAGGTGGTGGGCTCTCCGACGACGTGGAGTACT  CCCCGTTCCCGGTGCCGCCACGGCTCTCGCCCGCTCCGC  CGGACGACGGCGTGTGCCCGGCCGAAGGGTGCCTCGCCGACC  ACGAGGACGACAACCTACGACGACGAGGAGGTGATCGTG</p>	<p>WIVKYLHDRPKLLEAVRAEH  AAIHEANDGRRPLTWAQTR  SMTLTHRVILESLRMAISIFT  FREAIVADVEYKGFIPKGWK  VMPFRNIHSPDYFQDPHK  FDPFRFKVAPRNTFTFPFGS  VHACPGNELAKLEMLVLIHH  LVTGYRWEVVGSSDDVEYSP  FPVPRHGLLARLRDDGVCA  GRKGCPTEDDDNVDDEEVIV</p>	
<p><b>YCF3</b>  GenBank:  YP_874654.1</p>	<p>ATGCCGCGTCCCGGTGAACGGCAACTTCATCGACAAGAC  CTTCTCATCATCGCAACATCTCTCCGATCATCCCGAC  CACCTCCGGCAGAAAGAGGCTTACCTACTACCGCGACG  GCATGCTCGCCAGTCCGAGGGCAACTACCGCGAGGCCCTC  CAGAACTACTACGAGGCCACCCGCTCGAGATCGACCCGTA  CGACCGCTCTACATCTCTACAACATCGGCTCATCCACAC  CTCCAACGGCGAGCACACCAAGGCCCTCGAGTACTACTTCC  GGCCCTCGAGCGCAACCCGTTCTCCCGAGGCTTCAACA  ACATGGCCGTGATCTGCCACTACCGCGCGAGCAGGCCATC  CTCGAGGGCGACTCCGAGATCGCCGAGGCTGGTTCGACCA  GGCCGCCGAGTACTGGAAGCAGGCCATCGCCCTACCCCGG  GCAACTACATCGAGGCCAGAACTGGCTCAAGATCAACAA  CGTTCGAGTTCGAGG</p>	<p>MPSRVNNGFIDKTFSIANIL  LRIIPTTSGEKKAFTYYRDM  LAQSEGNIAEALQNYEATR  LEIDPYDRSYLYNIGLIHTSN  GEHTKALEYFRALERNPFL  PQAFNMAVICHYRGEQAIL  EGDSEIAEAWFDQAAEYWK  QAIALTPGNYIEAQNWLKITK  RFEFE</p>	<p>Saski <i>et al.</i>,  2007</p>
<p><b>Chloroplast  stay green  Protein</b>  GenBank:  AAW82955.1</p>	<p>ATGGCCATCGCGCCCGCGCGGCTCCACCATGTCCCT  CCTCCGATCTCCACCTCAAGCAGCTCCAGCTCCAGCGCC  GCGCCCGCCGGGCGGTGCTCGTGTCTCGGCGCGCCGCG  CCGCCACGTGGTGGCGCGCCGCTCTTCGGCCCGGCC  ATCTTCGAGGCTCAAGCTCAAGGTGCTTTCGTGGGCGT  GGACGAGGAGAAGCACCCGGGCAAGCTCCCGCGCACCTAC  ACCTCACCACTCCGACGTGACCGCCGCTCACCTTCG  CGTGTCCACACCATCCACGCGCCAGCTCCAGGGCTGGT  ACAACCGCTCCAGCGGACGAGGTGGTGGCCGAGTGGAA  GAAGGTGACAGGGCCATGTCCCTCCAGTGCCTGACGCA  TCTCCGGCGCCACTTCTCTCGACCTCATCGCCCGCTC  CGTACTACATCTTCGCAAGGAGCTCTCCGTGGTGTCAA  GGCTTCGTGACCGGCGCGCTCCCTTCTTCCAGCACC  CGGAGCTCGAGGAGGCCACCGTGTGGGTGATTTCCACTCC  AACACCCGAACTTCAACCGCGTGGAGTGTGGGGCCGCT  CTCCGACGCGCGCCCGTACGACGACGAGGCGCGGTG  GACTCCCGCGCGCGGACGCGCCATGGCCGCCACCGCG  TGAACACCGCGCGGACGAGCGCCACCCGCGCGCGGCA  GTGGCCGCGCGCTGCCCGGCCAGTGCAGTGTGCTTC  CCGCGGAGTGCCTCATCCGTTGGCGGACGAGCAGAGA  TGGCCCGGACGCGCGCCAGGCCCGCGCGCAG</p>	<p>MAIAAAGASTMSLLPISHL  KQLQLQRRARPGRVVLVLR  RRHVPRARLFGPAIFEASKL  KVLVFGVDEEKHPGKLPRTY  TLTHSDVTLARLTLA VSHTIHA  AQLQGWYNRLQREVVAE  WKKVQGAMSLHVHCHISGG  HFLDLIAPLRYIIFRKLVS  VLKAFVHGDGSLFSQHPELE  EATVWVYFHSNNPNFNVEC  WGPLSDAAAPYDDEAAVDS  PAADAAAMAATAVNTAADEQ  ATRAGQWPRRCPCQDCDF  PECLIPWPHEHEMAADAGQA  PPQ</p>	<p>Park <i>et al.</i>,  2007</p>
<p><b>GenSGR  mRNA</b>  GenBank:  AY850135.1</p>	<p>GGCTGACGGGACGAATCTATCGAGCTCCCTCCCGCTGCCTGT  GCCGACGCACACGCGACCCAGACGATCCCGCGTACTGCTCCG  GAGAATCTGGTCCGCTCGATTCTTCTCCCGTTGAGCGAGG  CGTGCAAACTACACCTGCCCCCTTGTCTCGCTCCCGCGGTTG  GTTAACTAGCCGGCGACCCCGGCTCCAGATCTGCTTATAGGC  TTCCTTTCTTGAACCTGGTTCAGCTCCCACTTCTGGTTGCTTCC  GAGGTGAAAGCAAAGACAGAGCAAGAGCCGAGTGTAGT  AGGGGAGCTAGCTAGCCTAGCAGACATGGCCATCGCCGCTGCC  GCTGGCGCTCCACATGTCCCTGCTCCCATCTCGACCTCAA  GCAGCTGCAGTGCAGCGGGCGCGCGCCCGGGCGGGTGTCT  GTGCTCGGCCCGGAGGCGACAGTCTGCGGAGGGCGCGG  TGTTTGTCCGCTATCTTCGAGGCGTCAAGTCAAGGTGCTG  TTCGTGGGGTGGACGAGGAGAAGCACCCGGGGAAGTGGCC  GGACCTACACGCTACCCACAGCGACGTGACGGCGCGGCTGAC  GCTGGCGTGTGCACACCATCCACGCGCGCAGCTGCAGGGC  TGGTACAACCGCTGCAGCGGGACGAGGTGGTGGCCGAGTGGGA  AGAAGGTGACGGGCGCATGTGCTGACGCTCACTGCCACAT  CTCCGGCGGCACTTCTGTCTGACCTCATCGCGCCGCTCCGCT  ACTACATCTCCGCAAGGAGCTCTCCGTGGTTCTGAAGCGTTC  GTGACGGCGACGGCAGCTGTTCAGCCAGCACCCGGAGCTGG  AGGAGGCCACGGTGTGGGTCTACTTCCACTCGAAACAACCCAA  CTTCAACCGCGTGCAGTGTGGGGCCGCTCAGCGACGCGCC  CGCCATACGATGACGAAGCCGCGTCACTCCAGCCGCGC  ACGACGATGGCGGCCACGGCGGTGAACACGCGCGGACG  AGCAGGCGACGCGCGGGCCAGTGGCCGCGCGGTGCCCGG  GCAGTGCAGTGTGCTTCCCGCGGAGTGCCTATCCCTGGC  CGCACGAGCAGGATGGCCCGGACGCGGCCAGGCGCCGCGC  GCAGTGAAGCCGACACAGATTAGCCGGCGGTGCAATCGTT  AGCTCGCAAGGTACATACGTAGACGGATGCAACGCAACGCAA  CGCAGCGCATGCGGTGGCGGCAAGAGACCCGATCGCATGCAT</p>		<p>Park <i>et al.</i>,  2007</p>



	GCATGCGTGCGCAGCGCTATTCCTTAATTGGTACGTAGCTTGGT AATCAATTAGCTCAGCCGTAGTGCATTCTCAGGTTAGTCAGGTA TAAATGTAACGCCATGGTTTGTGGTGATCTAGCTAGCTAGCTAG CCGAACCCAGGCTTTGTAATAAAAAATTGAATGCATTATCAGTC GTGGTTGTTGTACGGGCAAAGAAAAGGGACTCATTGGGGTGTA CATTTAAGATCGATGCTGCAACAAGATCCCCTGTTTCATCTAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA		
--	---	--	--

## VII. RESULTADOS

### 7.1 Etapa 1: Estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

#### 7.1.1 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de campo en la estabilidad del carácter *stay green*

Los resultados del análisis de varianza indicaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en todas las variables de sensores infrarrojos (temperatura de dosel (TEMP), índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) y contenido de clorofila (ICC)), con promedios de 23.9 °C, 0.70 y 45.8 spad respectivamente (Tabla 7.1), así como para la altura de la planta (ALT) con un promedio de 104.6 cm, y en el rendimiento de forraje seco (REND) con 11.29 t ha<sup>-1</sup>.

Tabla 7.1 Cuadrados medios, nivel de significancia de las variables de campo en la estabilidad del carácter *stay green*

Fuente de variación	gL	TEMP	NDVI	ALT	ICC	REND
Localidades	1	3592.17**	1.63**	1140.75**	1184.73**	1409.26**
Rep(Loc)	4	18.82**	0.002*	58.17**	13.52**	24.69**
Muestreo	1	2608.98**	2.65**	18644.08**	951.34**	16.77**
Rep(M)	4	11.24**	0.0008 <sup>NS</sup>	58.33**	16.64**	9.13**
Genotipos	24	1.76**	0.015**	213.01**	87.23**	15.64**
Loc*Geno	24	1.06**	0.004**	298.22**	9.66**	8.75**
Loc*M	1	24.37*	0.459**	520.08**	746.80**	2512.48**
Geno*M	24	0.90**	0.007**	210.92**	6.25**	6.82**
Loc*Geno*M	24	0.75*	0.003**	36.58**	8.84**	6.51**
Media		23.9	0.70	104.6	45.8	11.29
Des. Estándar		0.76	0.041	4.56	1.95	2.15
R <sup>2</sup>		0.98	0.94	0.91	0.89	0.85
C.V.		3.2	5.9	4.4	4.3	19.06

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); NS= No significativo; R<sup>2</sup>=Coeficiente de determinación; CV=Porcentaje del coeficiente de variación; TEMP=Temperatura de dosel (°C); NDVI=Índice de vegetación diferencial normalizado; ALT=Altura de planta (cm); ICC=Índice de contenido de clorofila (Spad);REND= Rendimiento de forraje seco (t ha<sup>-1</sup>).

Sin embargo, la temperatura de dosel (TEMP) registró una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la interacción localidades por días de muestreo (Loc por M) y en la localidad por genotipo por días de muestreo (Loc por Geno por M), mientras que el

índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) obtuvo una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) (Tabla 7.1).

En la prueba de comparación de medias entre las localidades, se encontró que la Localidad 1 (San Pedro de las Colonias-Coahuila) presentó los mayores valores de índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) de 0.77, índice de contenido de clorofila (ICC) de 47.79 Spad y el rendimiento de forraje (REND) de 13.46 t ha<sup>-1</sup>, indicados en la Tabla 7.2.

Tabla 7.2 Comparación de medias entre localidades y los días de muestreo de las variables de campo en la estabilidad del carácter *stay green*

<b>Localidad</b>	<b>TEMP</b>	<b>NDVI</b>	<b>ALT</b>	<b>ICC</b>	<b>REND</b>
Loc 1	20.45 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	102.67 <sup>b</sup>	47.79 <sup>a</sup>	13.46 <sup>a</sup>
Loc 2	27.37 <sup>b</sup>	0.63 <sup>b</sup>	106.57 <sup>a</sup>	43.81 <sup>b</sup>	9.12 <sup>b</sup>
<b>Muestreo</b>					
75 dds	20.96 <sup>b</sup>	0.79 <sup>a</sup>	96.73 <sup>b</sup>	44.02 <sup>b</sup>	11.53 <sup>a</sup>
90 dds	26.86 <sup>a</sup>	0.61 <sup>b</sup>	112.5 <sup>a</sup>	47.58 <sup>a</sup>	11.05 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P < 0.05$ ). Loc1= San Pedro de las Colonias-Coahuila; Loc 2= Zaragoza-Coahuila; dds=días después de la siembra; TEMP=Temperatura de dosel (°C); NDVI=Índice de vegetación diferencial normalizado; ALT=Altura de planta (cm); ICC=Índice de contenido de clorofila (Spad); REND=Rendimiento de forraje seco (t ha<sup>-1</sup>).

Por otro lado, se registraron altos valores a 90 dds para temperatura de dosel (26.96 °C), altura de planta (112.5 cm) e índice de contenido de clorofila (47.58 Spad), como se puede ver en la Tabla 7.2. Aunque el rendimiento en ambos muestreos resultó estadísticamente igual por presentar la misma literal, se puede observar un incremento conforme a los muestreos de 75 a 90 dds. Sin embargo, el índice de vegetación diferencial normalizado disminuyó de 0.79 a 0.61, lo que podría deberse básicamente a la sensibilidad y adaptación de los genotipos a las condiciones del ambiente, al no tener un afecto el rendimiento de forraje.

Con respecto a la comparación entre los genotipos, se formaron varios grupos estadísticos: seis en temperatura de dosel (TEMP), donde la mayoría de las líneas presentaron altas temperaturas de 23.9 a 24.5 °C (Tabla 7.3), incluyendo avena con 23.8°C y formando el primer grupo estadístico, mientras que el resto de testigos obtuvo menor temperatura, formando otros grupos estadísticos.

Tabla 7.3 Comparación de medias entre los genotipos estudiados en las variables de campo en la estabilidad del carácter *stay green*

Genotipo	TEMP	NDVI	ALT	ICC	REND
G1	24.5 a	0.658hi	105.4cdef	46.82cd	12.18ab
G2	24.4 a	0.696fg	107.5abcde	44.90efghi	11.76ab
G3	24.1abc	0.700ef	108.8abc	46.69cd	12.64ab
G4	23.9abcde	0.704def	108.8abc	44.69ghi	12.27ab
G5	24.2abc	0.702def	105.8bcdef	44.34hi	11.70ab
G6	23.9abcde	0.735bcd	107.5abcde	43.91hi	12.06ab
G7	23.9abcde	0.709def	104.2efgh	43.83hi	11.77ab
G8	24.2abc	0.683gghi	104.6efgh	45.04efghi	12.21ab
G9	23.9abcde	0.693fg	103.8fgh	44.34hi	11.16ab
G10	23.8bcde	0.693fg	105.8bcdef	45.29defgh	11.17ab
G11	24.0abcd	0.693fg	101.7ghi	44.12 hi	11.33ab
G12	23.9abcde	0.691fgh	108.3abcd	43.48i	11.51ab
G13	24.3ab	0.69fgh	109.6a	44.85fghi	11.52ab
G14	23.7bcde	0.712cde	108.8abc	43.96hi	11.16ab
G15	23.9abcde	0.693fg	109.2ab	43.93hi	11.34ab
G16	23.6cde	0.727cde	105.4cdef	43.68i	11.66ab
G17	24.0abcd	0.650i	101.7ghi	46.99c	11.30ab
G18	23.9abcd	0.663ghi	101.3hi	47.45c	11.50ab
G19	24.3ab	0.655i	102.9fgh	46.37cdef	12.80a
G20	23.8bcde	0.653i	105.0edfg	46.43cde	12.28ab
G21 (Avena)	23.8abcde	0.749 bc	102.5fghi	54.61 a	9.14c
G22 (Cerro Prieto)	23.5de	0.753 cb	99.2i	47.07c	9.18c
G23 (GABYAN95)	23.8bcde	0.763 ab	105.0edfg	46.02cdefg	11.06b
G24 (Trigo)	22.6f	0.793 a	89.6j	43.47i	9.03c
G25 (Triticale)	23.4e	0.683fghi	103.3fgh	52.72 b	8.50c

\*\* Altamente significativo=  $p \leq 0.01\%$ ; \* Significativo=  $p \leq 0.05\%$ ; NS= No significativo;  $R^2$  = Coeficiente de determinación; CV= Porcentaje del Coeficiente de variación; TEMP= Temperatura de dosel ( $^{\circ}\text{C}$ ); NDVI= Índice de vegetación diferencial normalizado; ALT= Altura de planta (cm); ICC= Índice de contenido de clorofila (Spad); REND= Rendimiento de forraje seco ( $\text{t ha}^{-1}$ ); Avena cv. Cuauhtémoc; Trigo línea AH-266-99; Triticale cv. Eronga -83

En índice de verdor y contenido de clorofila (NDVI y ICC), se formaron nueve grupos estadísticos, siendo el testigo G24 (trigo) en NDVI, con el mayor valor (0.793), seguido de las líneas G6, G14, G16 con valores de 0.735, 0.712 y 0.727 respectivamente, e incluidos los testigos G21 (avena), G22 (Cerro prieto) y G23 (GABYAN95) con valores de 0.749, 0.753 y 0.763, respectivamente, que formaron los tres primeros grupos estadísticos (Tabla 7.3).

Por otra parte, el ICC registró a los testigos G21 (avena) y G25 (triticale) con 54.61 y 52.72 Spad (Tabla 7.3), formando los dos primeros grupos, seguidos de las progenies de cebada G1, G3, G17, G18, G19, G20 y los testigos de cebada G22 (Cerro prieto) y G23 (GABYAN95) en el tercer grupo, con valores de 46.0 a 47.0 Spad.

En la altura de plantas (ALT), se formaron diez grupos, encontrando a las líneas de cebada G2, G3, G4, G6, G12, G13, G14 y G15 con los mayores valores de 109.2 a 109.6 cm en comparación a los testigos G22 (Cerro prieto) y G24 (trigo), que resultaron con una media de 99.2 y 89.6 cm, respectivamente.

En el rendimiento de forraje (REND), se encontraron tres grupos (Tabla 7.3), presentando las líneas progenie de cebada, el mayor rendimiento de forraje (11.16 a 12.80 t ha<sup>-1</sup>), superando al progenitor GABYAN95 (G22) con 11.06 t ha<sup>-1</sup>, y al resto de testigos con los más bajos rendimientos de 8.5 a 9.18 t ha<sup>-1</sup>.

La temperatura de dosel registró los valores más altos en Zaragoza-Coahuila (Localidad 2), con las líneas de cebada G8, G17, G18 y G19, rebasando los 30 °C como lo muestra la Figura 7.1, a pesar de que las temperaturas en esta localidad se encontraron por arriba de los 31 °C según CNTP (2019). En los meses de marzo-abril a los 90 dds, los testigos mantuvieron la temperatura del dosel por debajo de 31 °C.

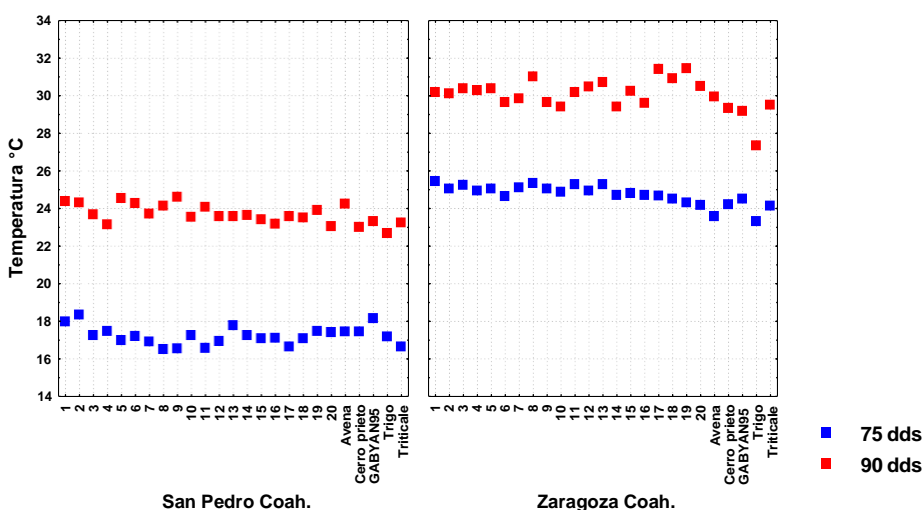


Figura 7.1 Temperatura de dosel a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

La altura de la planta presentó el mayor valor (130 cm) en Zaragoza-Coahuila para los testigos avena y triticale, así como las líneas progenie G14 y G15 en las dos localidades (120 cm), GABYAN95 y la línea G4 en San Pedro-Coahuila a los 90 dds (Figura 7.2).

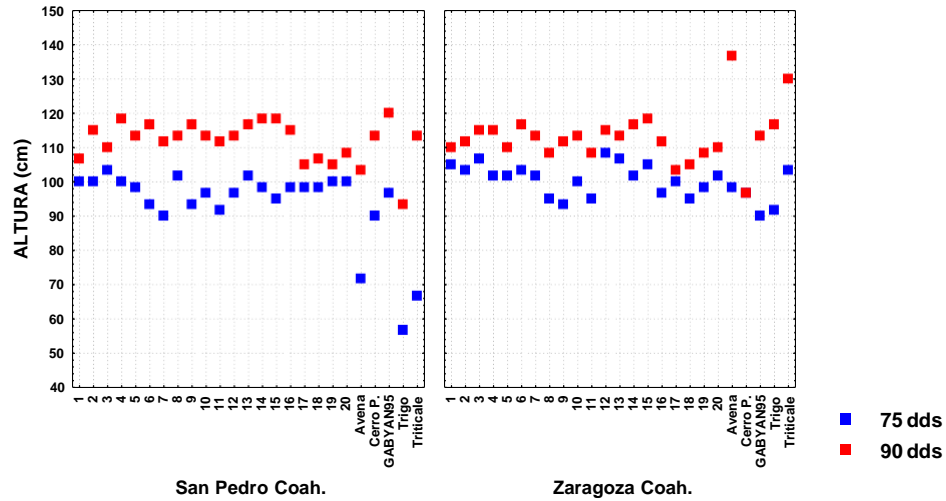


Figura 7.2 Altura de planta (ALT) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

El índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) presentó una respuesta similar en el primer muestreo (a los 75 dds) en San Pedro-Coahuila, con valores por arriba de 0.80 (Figura 7.3). Sin embargo, los testigos avena, trigo y cebada cv Cerro prieto tuvieron valores por arriba de 0.80 a los 90 dds, seguidos de las progenies de cebada G7, G12 y G16 junto con el progenitor G23 (GABYAN95) con 0.80.

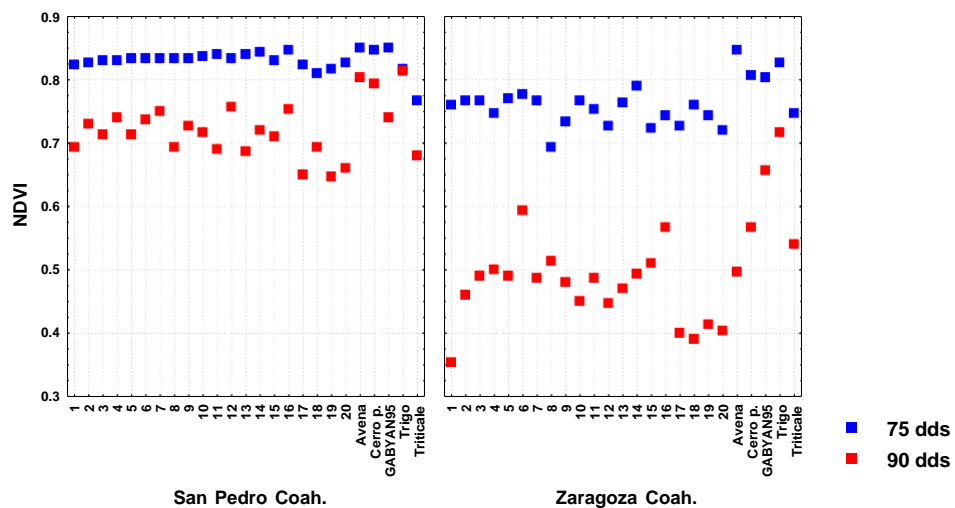


Figura 7.3 Índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

La Figura 7.3 muestra también que en el primer muestreo, los testigos G21 (avena), G22 (Cerro prieto), G23 (GABYAN95) y G24 (trigo) resultaron con los mayores valores de NDVI entre 0.80 y 0.85, seguidos de la línea G14 con 0.80.

Con respecto al índice de contenido de clorofila (ICC), se presentaron los mayores valores en las localidades y ambos días de muestreo para los testigos avena y triticale (Figura 7.4).

Sin embargo, la mayoría de las líneas progenies obtuvieron valores similares en San Pedro-Coahuila, marcando una estabilidad en la clorofila en los dos muestreos, y en Zaragoza-Coahuila, persistieron en los mismos valores a los 90 dds.

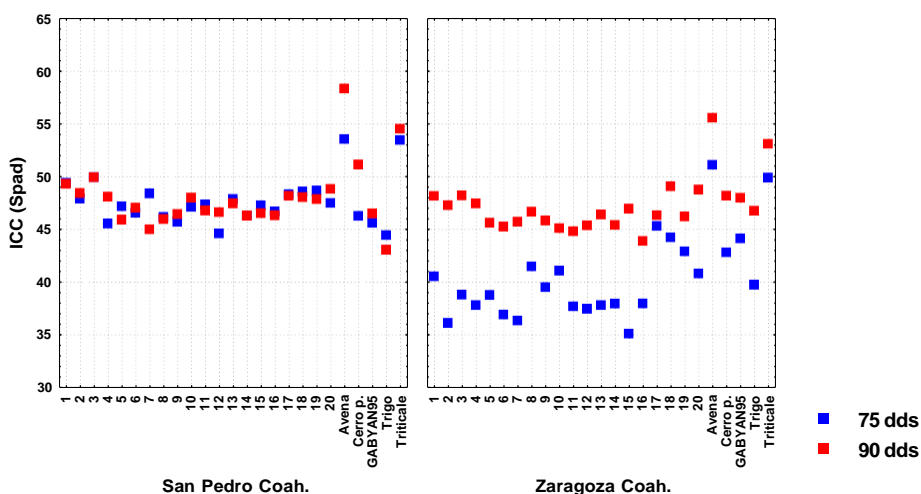


Figura 7.4 Índice de contenido de clorofila (ICC) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

El rendimiento de forraje (REND) registró los mayores valores ( $18 \text{ t ha}^{-1}$ ) en San Pedro-Coahuila a los 75 dds para las líneas G1, G4, G6, G7, G8, G12, G14, G16, G18, G19, G20 y el progenitor G23 (GABYAN95), superando a los testigos trigo y triticale (Figura 7.5), y a los 90 dds, para las líneas G3, G13, G19, G20 y G23 (GABYAN95) con rendimientos por arriba de  $13 \text{ t ha}^{-1}$ . Asimismo, en Zaragoza-Coahuila, a los 90 dds, las líneas G3, G16, G19, G20 y G23 (GABYAN95) obtuvieron altos rendimientos entre  $14$  y  $15 \text{ t ha}^{-1}$ .

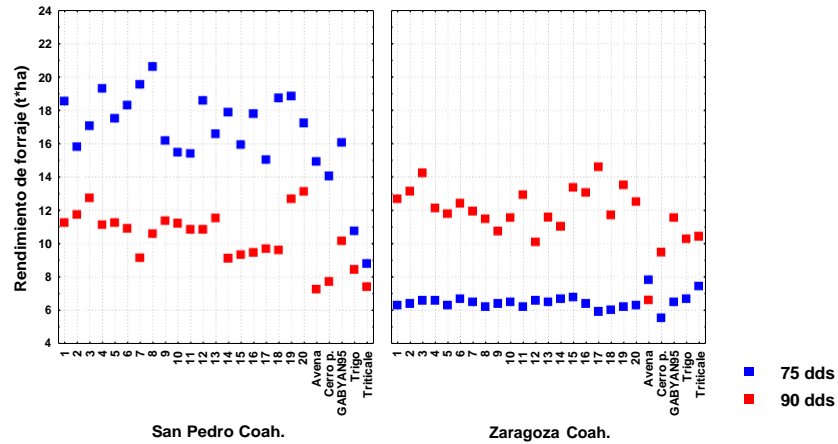


Figura 7.5 Rendimiento de forraje seco (REND) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

### 7.1.2 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de laboratorio en la estabilidad del carácter *stay green*

El análisis de los estomas en la epidermis del haz mostró diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en las fuentes de variación localidades, muestreos y localidades por muestreo (Loc por M) para la densidad estomática (DEH), el índice estomático (IEH), la longitud de estoma (LH) y el ancho de estomas (AH) con promedios de 64.9 estomas/mm<sup>2</sup>, 56.15%, 51.68  $\mu\text{m}$  y 23.61  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Tabla 7.4). Además, se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los genotipos en DEH, IEH, LH, y en la interacción genotipos por muestreos (Geno por M) en IEH, LH y AH, mientras que DEH resultó con diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ).

Con respecto al análisis de varianza en el estudio estomático de la epidermis del envés de hoja, los resultados presentaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en casi todas las variables, con promedios de 61.9 estomas /mm<sup>2</sup> para la densidad estomática (DEE), 55.82% para el índice estomático (IEE), 53.15  $\mu\text{m}$  para la longitud de estomas (LE) y 22.21  $\mu\text{m}$  en el ancho de estoma (AE) (Tabla 7.5). Asimismo, no se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en las interacciones localidades por muestreos (Loc por M) en LE y AE, así como en localidades por genotipos por muestreos (Loc por Geno por M) para DEE, IEE y LE.



Tabla 7.4 Cuadrados medios y nivel de significancia de las variables del estudio estomático de la superficie del haz de la hoja en la estabilidad del carácter *stay green*

Fuente de variación	gL	DEH	IEH	LH	AH
Localidades	1	157.08**	166207.78**	1111.67**	373.6**
Rep(Loc)	4	46.71 <sup>NS</sup>	57.098**	181.13**	13.05 <sup>NS</sup>
Muestreo	1	14890.01**	334.48**	28.32**	57.49*
Rep(M)	4	168.11*	43.24**	61.86**	15.10 <sup>NS</sup>
Genotipos	24	157.08*	11.71*	11.71*	31.69**
Loc*Geno	24	222.28*	7.96 <sup>NS</sup>	730.76 <sup>NS</sup>	28.72*
Loc*M	1	21339.55**	107.76**	43.66**	708.38**
Geno*M	24	170.57**	12.26*	52.31*	21.63*
Loc*Geno*M	24	260.97**	17.63**	35.79 <sup>NS</sup>	26.67*
Media		64.9	56.15	51.68	23.61
Desv. Estándar		10.68	3.48	6.17	4.52
R <sup>2</sup>		0.86	0.99	0.47	0.49
C.V.		16.5	6.2	11.9	19.2

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \*Significativo ( $p \leq 0.05$ ); NS= No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Porcentaje del coeficiente de variación; DEH= Densidad estomática del haz (estomas/mm<sup>2</sup>) ; IEH= Índice estomático del haz (%); LH= Longitud del estoma en el haz ( $\mu\text{m}$ ); AH= Ancho del estoma en el haz( $\mu\text{m}$ ).

Tabla 7.5 Cuadrados medios y nivel de significancia de las variables del estudio estomático de la superficie del envés de la hoja en la estabilidad del carácter *stay green*

Fuente de variación	gL	DEE	IEE	LE	AE
Localidades	1	82479.66**	166695.78**	1502.14**	1523.92**
Rep(Loc)	4	331.66*	35.97**	146.04**	16.08**
Muestreo	1	1424.33**	1.54 <sup>NS</sup>	36.69*	257.61**
Rep (Muestreo)	4	228.54*	15.04*	42.44*	35.55**
Genotipos	24	251.56**	27.98**	27.65 <sup>NS</sup>	16.77**
LOC*GEN	24	242.29*	24.09**	31.25*	17.99**
LOC*MUES	1	4681.43**	164.77**	0.453 <sup>NS</sup>	7.97 <sup>NS</sup>
GEN*MUES	24	111.10 <sup>NS</sup>	11.85 <sup>NS</sup>	31.38*	10.49**
LOC*GEN*MUES	24	158.98 <sup>NS</sup>	15.51 <sup>NS</sup>	20.76 <sup>NS</sup>	8.83*
Media		61.9	55.82	53.15	22.21
Desv. Estándar		13.21	3.81	5.41	2.60
R <sup>2</sup>		0.77	0.98	0.47	0.72
%C.V.		21.34	6.82	10.2	11.71

\*\*Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \*Significativo ( $p \leq 0.05$ ); NS= No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Porcentaje del coeficiente de variación; DEE= Densidad estomática del envés (estomas/mm<sup>2</sup>); IEE= Índice estomático del envés (%); LE = Longitud del estoma en el envés ( $\mu\text{m}$ ); AE= Ancho del estoma en el envés ( $\mu\text{m}$ ).

En la prueba de comparación de medias entre las localidades en el estudio estomático, se encontró que la localidad 1, San Pedro de las Colonias-Coahuila, presentó los mayores valores en la densidad estomática del envés (DEE), en el índice estomático (IEH y IEE), longitud (LH y LE) y ancho de estoma (AH y AE) del haz y envés (Tabla

7.6), siendo San Pedro de las Colonias una mejor condición para el desarrollo vegetativo de los genotipos estudiados.

Tabla 7.6 Comparación de medias entre localidades y días de muestreo de las variables del estudio estomático en la estabilidad del carácter *stay green*

<b>Localidad</b>	<b>DEH</b>	<b>IEH</b>	<b>LH</b>	<b>AH</b>	<b>DEE</b>	<b>IEE</b>	<b>LE</b>	<b>AE</b>
Loc 1	48.17 <sup>b</sup>	79.69 <sup>a</sup>	53.60 <sup>a</sup>	24.72 <sup>a</sup>	45.41 <sup>b</sup>	79.39 <sup>a</sup>	55.39 <sup>a</sup>	24.47 <sup>a</sup>
Loc 2	81.56 <sup>a</sup>	32.61 <sup>b</sup>	49.75 <sup>b</sup>	22.49 <sup>b</sup>	78.58 <sup>a</sup>	32.25 <sup>b</sup>	50.91 <sup>b</sup>	19.96 <sup>b</sup>
<b>Muestreo</b>								
75 dds	57.82 <sup>b</sup>	57.21 <sup>a</sup>	51.99 <sup>a</sup>	24.04 <sup>a</sup>	59.81 <sup>b</sup>	55.89 <sup>a</sup>	52.80 <sup>a</sup>	21.29 <sup>b</sup>
90 dds	71.91 <sup>a</sup>	55.09 <sup>b</sup>	51.37 <sup>a</sup>	23.17 <sup>a</sup>	64.17 <sup>a</sup>	55.75 <sup>a</sup>	53.50 <sup>a</sup>	23.14 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P \leq 0.05$ ); Loc1= San Pedro de las Colonias-Coahuila; Loc 2= Zaragoza-Coahuila; dds= días después de la siembra; DEH= Densidad estomática del haz (estomas/mm<sup>2</sup>); IEH= Índice estomático del haz (%); LH= Longitud del estoma en el haz ( $\mu\text{m}$ ); AH= Ancho del estoma en el haz ( $\mu\text{m}$ ); DEE= Densidad estomática del envés (estomas/mm<sup>2</sup>); IEE= Índice estomático del envés (%); LE = Longitud del estoma en el envés ( $\mu\text{m}$ ); AE= Ancho del estoma en el envés ( $\mu\text{m}$ ).

En ambos muestreos, el ancho de estomas del haz (AH), el índice estomático del envés (IEE) y la longitud de estomas del haz y envés (LH y LE) evidenciaron grupos estadísticamente iguales (Tabla 7.6). Sin embargo, el segundo muestreo efectuado después de 15 días permite ver que las condiciones climáticas eran un poco diferentes, a tal grado que se presentaron mayores densidades en ambas superficies de la hoja DEH con 71.91 estomas/mm<sup>2</sup> y DEE con 64.17 estomas/mm<sup>2</sup>. Cabe señalar que hubo una disminución en el IEH de 57.21% (75 dds) a 55.09% (90 dds) como lo muestra la Tabla 7.6.

Con respecto a los genotipos, los estomas de la superficie adaxial presentaron cinco grupos estadísticos en la densidad estomática y longitud de estomas (DEH y LH), mientras que el índice estomático (IEH) presentó tres grupos, y el ancho de estomas (AH) cuatro grupos (Tabla 7.7).

En DEH, las líneas de cebada G1, G4, G6, G7, G10, G11, G12, G13, G19 y los testigos de cebada G22 (cv. Cerro prieto) y G23 (cv. GABYAN95) resultaron con la mayor densidad de 64.92 a 72.97 estomas/mm<sup>2</sup> (Tabla 7.7), mientras que en el índice estomático, las líneas G4, G12 y G19 del mismo grupo obtuvieron los mayores porcentajes de 56.11, 56.82 y 56.63 %, respectivamente.

En el tamaño de los estomas, la longitud (LH) y ancho (AH) en la superficie del haz presentaron a la línea de cebada imberbe G6 con el mayor valor con 51.02  $\mu\text{m}$  en

LH y 25.73  $\mu\text{m}$  en AH. Cabe señalar que el testigo triticale (cv. Eronga-83) siempre presentó un mayor tamaño en la anatomía de los estomas, por lo que se encontró en el primer grupo estadístico (Figura 7.6), en comparación de los estomas de la especie de cebada cv. GABYAN95.

Tabla 7.7 Comparación de medias entre genotipos en las variables del estudio estomático de la superficie del haz de la hoja en la estabilidad del carácter *stay green*

Genotipo	DEH	IEH	LH	AH
G1	70.20ab	55.70bc	48.28de	22.93bcd
G2	63.41bcde	55.27bc	50.16cde	22.47cd
G3	59.76de	57.67ab	53.93abc	24.24bcd
G4	67.05abcd	56.11abc	51.01bcde	22.48cd
G5	66.30abcde	56.80abc	53.74abc	23.34bcd
G6	69.82ab	54.67c	51.46abcde	25.73abc
G7	69.19abc	55.53bc	51.02bcde	22.99bcd
G8	60.26de	56.24abc	55.23ab	22.60bcd
G9	66.43abcd	55.35bc	53.76abc	24.25bcd
G10	72.97a	54.57c	49.86cde	22.89bcd
G11	67.68abcd	55.60bc	52.97abcd	22.35cd
G12	66.05abcde	56.82abc	49.71cde	21.39d
G13	66.55abcd	55.38bc	50.16cde	23.19bcd
G14	62.27bcde	54.64c	53.88abc	25.15bc
G15	62.27bcde	56.30abc	52.67abcd	22.29cd
G16	63.28bcde	55.78abc	49.88cde	22.79bcd
G17	63.53bcde	57.14abc	51.05bcde	23.10bcd
G18	61.90bcde	57.65ab	52.28abcd	22.88bcd
G19	64.92abcde	56.63abc	51.47abcde	22.96bcd
G20	64.29bcde	56.90abc	54.40abc	24.23bcd
G21 (Avena)	60.89cde	56.28abc	50.56bcde	24.90bcd
G22 (Cerro Prieto)	67.68abcd	55.81abc	49.62cde	23.33bcd
G23 (GABYAN95)	64.41abcde	55.82abc	47.22e	26.21ab
G24 (Trigo)	62.78bcde	56.60abc	51.51abcde	22.50cd
G25 (Triticale)	57.75e	58.55a	56.15a	29.10a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P \leq 0.05$ ); DEH= Densidad estomática del haz (estomas/ $\text{mm}^2$ ); IEH= Índice estomático del haz (%); LH= Longitud del estoma en el haz ( $\mu\text{m}$ ); AH= Ancho del estoma en el haz ( $\mu\text{m}$ ); Avena cv. Cuauhtémoc; Trigo línea AH-266-99; Triticale cv. Eronga -83

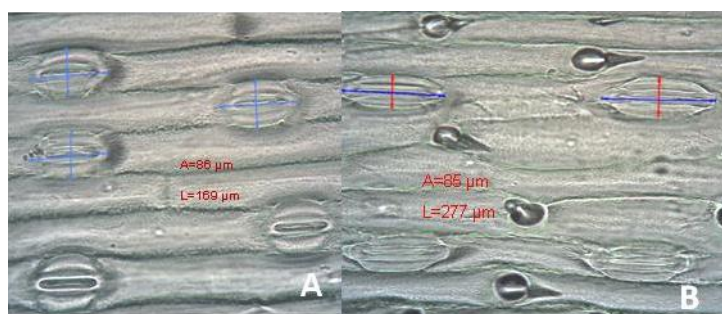


Figura 7.6 Impresiones a 40 X de la epidermis del haz de hojas del estudio estomático en la estabilidad del carácter *stay green*. A) Testigo cebada cv. GABYAN95, Escala 5mm<sup>2</sup>:0.46mm; B) Testigo triticale cv. Eronga-83, Escala 5mm<sup>2</sup>:0.55mm

En la comparación de los genotipos en el estudio estomático del envés, se formaron cinco grupos estadísticos para la densidad estomática (DEE). El primer grupo estadístico fue integrado por las líneas de cebada G1, G5, G6, G7, G10, G15 y G18, así como los testigos G21 (avena, cv. Cuauhtémoc) y G22 (cebada cv. Cerro prieto), donde la línea G5 presentó el mayor valor de 73.94 estomas/mm<sup>2</sup> (Tabla 7.8).

Tabla 7.8 Comparación de medias entre genotipos estudiados en las variables del estudio estomático de la superficie del envés de la hoja en la estabilidad del carácter *stay green*

Genotipos	DEE	IEE	LE	AE
G1	65.67abcd	54.96cdefg	49.91d	21.54cde
G2	61.89bcde	54.99cdefg	52.79abcd	21.72cde
G3	62.40bcde	54.39defg	50.99bcd	21.21cde
G4	59.51bcde	55.72bcdef	50.61cd	20.46e
G5	73.94a	52.10g	55.33ab	22.51bcde
G6	63.90abcde	53.83efg	52.73abcd	22.01cde
G7	68.69ab	54.87cdefg	51.26bcd	21.65cde
G8	60.51bcde	57.57abc	53.48abcd	22.47bcde
G9	60.26bcde	56.48abcdef	54.87abc	22.95bcd
G10	67.05abcd	54.90cdefg	52.71abcd	21.31cde
G11	56.86de	56.77abcde	53.70abcd	21.62cde
G12	59.51bcde	56.76abcde	52.06abcd	20.86de
G13	60.39bcde	57.16abcd	53.89abcd	21.51cde
G14	58.50bcde	57.20abcd	55.90a	24.43ab
G15	65.67abcd	53.50fg	53.16abcd	21.60cde
G16	58.50bcde	56.33abcdef	53.85abcd	21.77cde
G17	56.40cde	57.32abcd	53.90abcd	21.65cde
G18	63.78abcde	55.57abcdef	52.08abcd	22.08cde
G19	54.35e	58.57a	54.01abcd	22.12cde
G20	57.37 cde	55.77abcdef	55.63a	22.70bcd
G21 (Avena)	67.68abc	55.36bcdef	53.01abcd	24.48ab
G22 (Cerro Prieto)	66.30abcd	55.29bcdef	52.36abcd	22.02cde
G23 (GABYAN95)	61.14bcde	55.15cdefg	52.61abcd	22.02cde
G24 (Trigo)	56.74de	58.28ab	53.29abcd	23.08bc
G25 (Triticale)	62.15bcde	56.98abcd	54.65abc	25.70a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P<0.05). DEE= Densidad estomática del envés (estomas / mm<sup>2</sup>); IEE= Índice estomático del envés (%); LE = Longitud del estoma en el envés (µm); AE= Ancho del estoma en el envés (µm).

Para el índice estomático del envés (IEE), se formaron siete grupos estadísticos (Tabla 7.8), en donde el primer grupo fue formado por las líneas G8, G11, G12, G13, G14, G16, G17, G18, G19 y G20, así como los testigo G24 (trigo) y triticale (G25) con valores de 55.57 a 58.57 %, presentando G19 el mayor índice en el grupo y G18 el menor.

Cabe señalar que el índice estomático, la longitud y ancho de estomas del testigo triticale (G25) resultó con mayores valores que el resto de los genotipos, formando parte de los primeros grupos estadísticos con 56.98% (IEE), 54.65  $\mu\text{m}$  (LE) y 25.70  $\mu\text{m}$  (AE), en comparación con las cebadas forrajera (Figura 7.7).

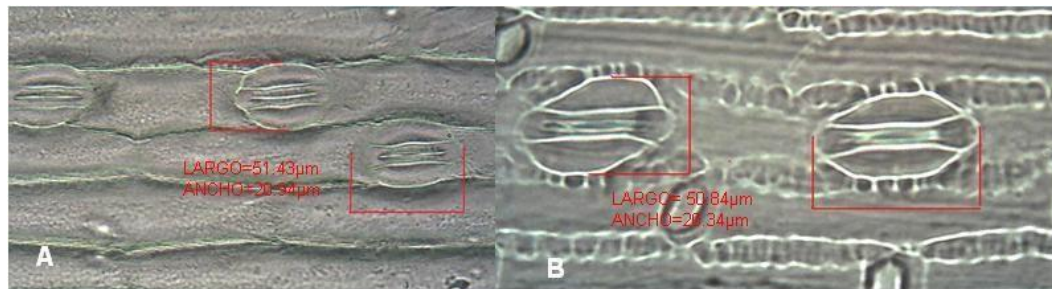


Figura 7.7 Impresiones a 40 X de la epidermis del envés de hojas del estudio estomático en la estabilidad del carácter *stay green* de progenies de cebada. A) Testigo cebada cv. GABYAN95, Escala 10mm<sup>2</sup>:0.46mm; B) Testigo triticale cv. Eronga-83, Escala 10mm<sup>2</sup>:0.55mm

La densidad de haz y envés de la hoja presentó la mayor estabilidad de los genotipos en la localidad San Pedro-Coahuila (Figura 7.8), con la mayor densidad estomática a los 75 dds, en la mayoría de las líneas progenies, mientras que en la localidad Zaragoza-Coahuila, destacaron la mayoría de las líneas progenie de cebada por arriba del 80 % en el segundo muestreo.

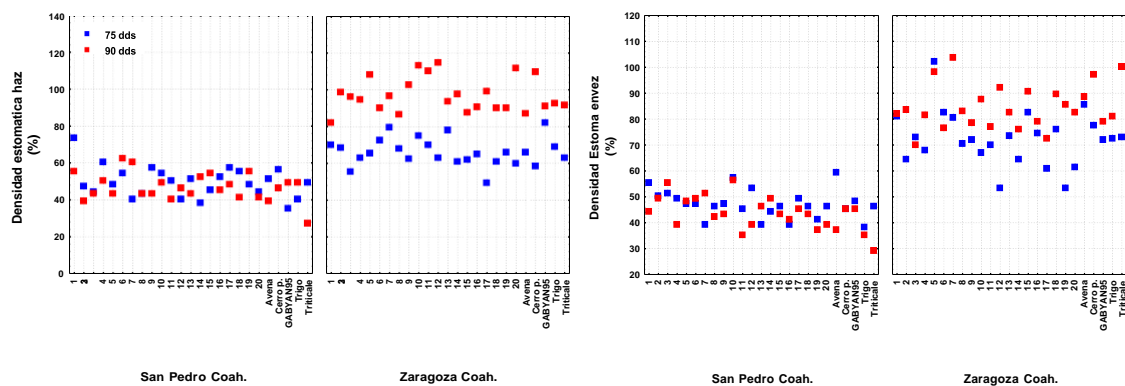


Figura 7.8 Densidad estomática del haz y envés (DEH y DEE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

Con respecto a la morfología de los estomas en el haz y envés de la hoja, en la localidad San Pedro-Coahuila a los 90 dds, la línea de cebada G3 y el testigo G25 (triticale) presentaron la mayor longitud de estomas del haz (LH) por arriba de 85  $\mu\text{m}$ , y

los testigos G21 (avena) y G25 (triticale) la mayor longitud de estomas del envés (LE) con 84 y 85  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Figura 7.9), mientras que a los 75 dds, la línea G7 registró el mayor valor por arriba de 63  $\mu\text{m}$ .

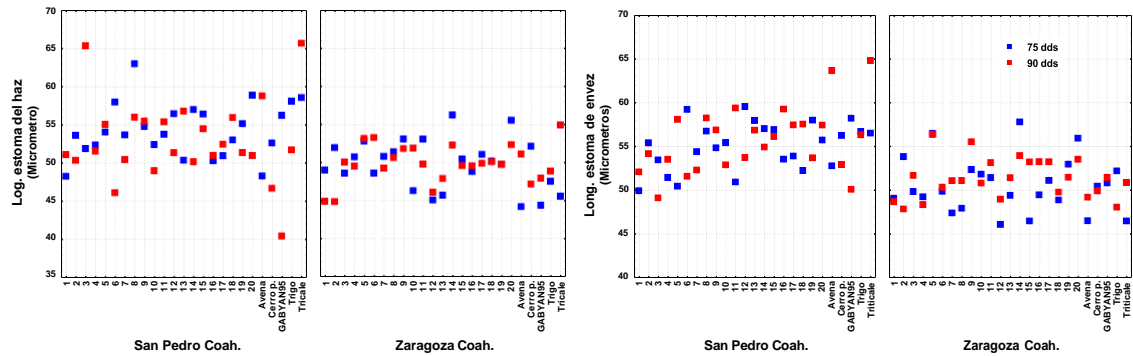


Figura 7.9 Longitud de estomas del haz y envés (LH y LE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green*

En el ancho de estomas de la epidermis en haz y envés de la hoja, la localidad San Pedro-Coahuila, a los 90 dds, presentó a la línea G3 y los testigos G21 (avena), G23 (cv. GABYAN95) y G25 (triticale cv Eronga-83) con los mayores valores de ancho de estomas del haz (AH) por arriba de 30  $\mu\text{m}$  (Figura 7.10), mientras que en Zaragoza- Coahuila, a los 75 dds, todos los genotipos resultaron con mayor ancho de estomas en el haz, así como a los 90 dds, la línea G6 registró el mayor valor por arriba de 30  $\mu\text{m}$ .

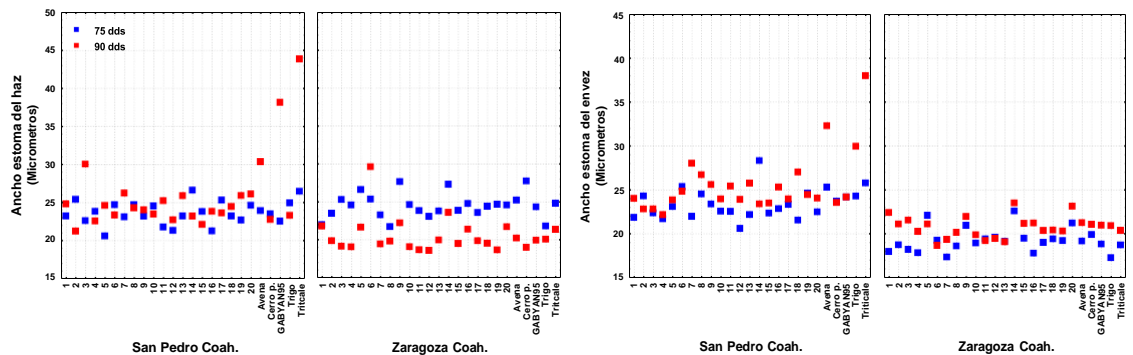


Figura 7.10 Ancho de estomas del haz y envés (AH y AE) a través de localidades y días de muestreo en la estabilidad del carácter *stay green* de progenies de cebada

En San Pedro-Coahuila a los 90 dds, los testigos G21 (avena), G24 (trigo) y G25

(triticale) presentaron los mayores valores de ancho de estoma en el envés (AE) de 30 a

38  $\mu\text{m}$ , seguidos por las líneas G7 y G18 con valores de 28  $\mu\text{m}$  (Figura 7.10). En esta misma localidad a los 75 dds, la línea G13 presentó el mayor valor de AE con 30  $\mu\text{m}$ , destacándose dentro de todos los genotipos.

### 7.1.3 Análisis de conglomerados de variables en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada a través de los días de muestreo

El análisis de conglomerados de las variables estudiadas en la etapa de la estabilidad del carácter *stay green*, a los 75 dds, indicó a través del dendrograma una participación de cinco grupos asociados, a una distancia de 100 (Figura 7.11). La altura de planta (ALT) constituyó el primer grupo; el segundo grupo se formó por las densidades estomáticas de ambas superficies (DEH y DEE); el tercer grupo por los índices estomáticos de haz y envés (IEH y IEE); el cuarto grupo lo conformaron las longitudes de estomas (LH, LE) y el índice de contenido de clorofila (ICC); y el último grupo fue formado por el rendimiento de forraje (REND), el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), los anchos de estomas (AE y AH) y la temperatura de dosel (TEMP), donde el rendimiento de forraje presentó la mayor relación con NDVI por estar más cercanos. También, la temperatura de dosel se relacionó más con los anchos de estomas (AE y AH), por la corta distancia de ligamento que presentaron (Figura 7.11).

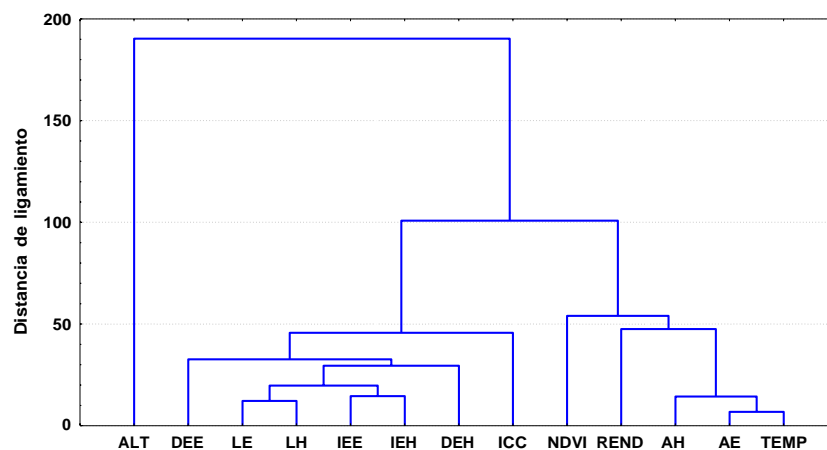


Figura 7.11 Agrupamiento de variables evaluadas a los 75 dds en la estabilidad del carácter *stay green*, mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamento 100)



Los índices estomáticos del haz y envés (IEH y IEE) están directamente relacionados por mostrar una menor distancia de ligamiento (Figura 7.11), seguidos las longitudes de estomas (LE y LH) con una distancia corta, indicando una relación entre ambas variables a los primeros 75 dds, mientras que las longitudes de estomas y los índices estomáticos tienen cierta relación con el contenido de clorofila por encontrarse cercanos.

Con respecto al segundo muestreo a los 90 días después de la siembra, el dendograma indicó una distribución similar a la de 75 dds, pero de una manera más definida, en tres conglomerados a una distancia de 100 (Figura 7.12).

La altura de planta se ubicó nuevamente en un grupo, seguida por otro conglomerado formado por las densidades estomáticas (DEH y DEE), las longitudes de estomas (LH y LE), los índices estomáticos tanto del haz como del envés (IEH y IEE), y el índice de contenido de clorofila (ICC); y el último grupo integrado por el rendimiento de forraje (REND), el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), los anchos de estomas del haz y envés (AH y AE), así como la temperatura de dosel (TEMP).

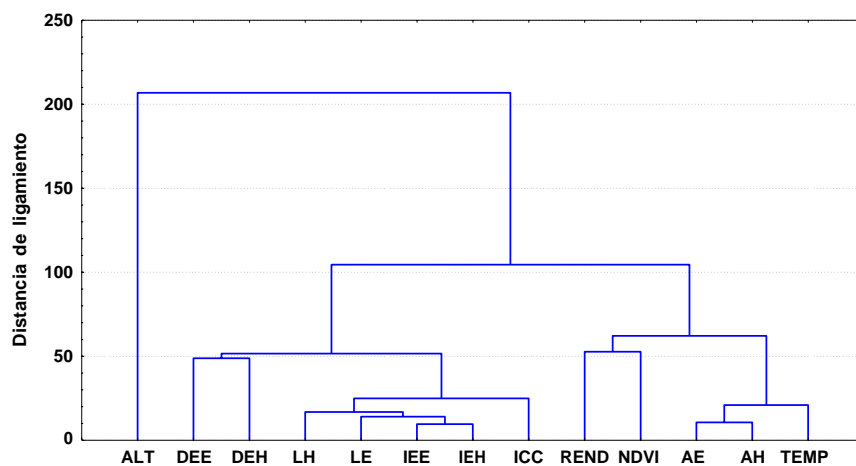


Figura 7.12 Agrupamiento de variables evaluadas a los 90 dds en la estabilidad del carácter *stay green*, mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 100)

#### 7.1.4 Análisis de conglomerados de genotipos en la estabilidad del carácter *stay green* a través de los días de muestreo

A los 75 dds, los índices estomáticos en ambas superficies de la hoja (haz y envés) mostraron una menor distancia de ligamiento (10), indicando una relación entre ellos y

de igual forma, los anchos de estomas, las longitudes de estomas y las densidades estomáticas con una distancia de ligamiento entre 12 y 15 (Figura 7.12). Asimismo, se identificó la relación del índice de contenido de clorofila con los índices estomáticos y longitudes de estomas por presentar una distancia de ligamiento de 20, así como la temperatura de dosel con los anchos de estomas con una distancia de 15.

En el análisis de conglomerados de los genotipos, a los 75 dds, se registraron siete conglomerados a una distancia de 10 (Figura 7.13), los testigos trigo, avena y triticale se ubicaron en distintos grupos cercanos, posiblemente por tener diferentes características, pero a la vez con valores similares en algunas de las variables evaluadas, como fue en la temperatura de dosel (20.2 °C), en el índice de vegetación diferencial normalizado (0.84) y en el índice estomático de haz (57.0 %).

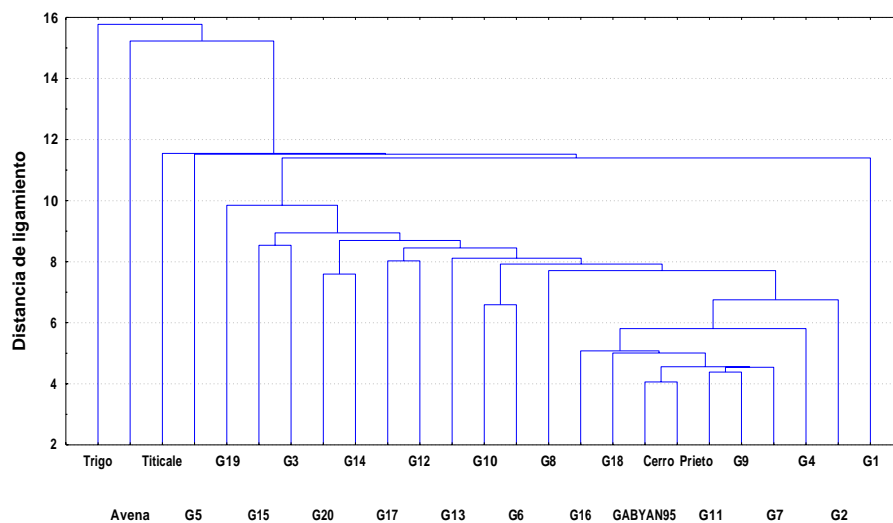


Figura 7.13 Agrupamiento de genotipos evaluados a los 75 dds en la estabilidad de carácter *stay green*, mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 10)

Las progenies G5, G19 y G1 se ubicaron en diferentes grupos (Figura 7.13), distinguiéndose la línea G5 del resto por presentar la mayor densidad estomática del envés con 74.7 estomas/mm<sup>2</sup>, y al estar cerca del triticale, se puede considerar que tienen características similares como la densidad estomática del haz (56.1 estomas/mm<sup>2</sup>) y el ancho de estomas en el envés (22.2 μm). La progenie G19 registró el mayor valor en el índice estomático del envés (59.4%), con valores similares de las demás variables en el resto de las progenies. Así mismo, la progenie G1 presentó mayor temperatura de dosel

(21.7°C) y densidad estomática del haz (71.7 estomas/mm<sup>2</sup>), ubicándose de manera distante al resto de las progenies.

En la Figura 7.13, se puede ver un conglomerado integrado por la mayoría de las líneas, incluyendo a los testigos G22 (Cerro prieto) y G23 (GABYAN95), debido a que son de la misma especie y presentan valores similares en los parámetros evaluados, por lo que se puede decir que entre más cercano se encuentra un genotipo de otro, tienen características semejantes con valores similares o iguales. Por ejemplo, las líneas G9 y G11 resultaron con valores iguales de temperatura de dosel (20.9 °C), altura de planta (93.3 cm), contenido de clorofila (42.5 Spad), en el índice estomático del haz (56.5%).

Las variedades de cebada comercial GABYAN95 y Cerro prieto presentaron características semejantes por tener valores similares en el NDVI (0.82), en la altura de planta (93 cm), en el contenido de clorofila (44.5 Spad), en el índice estomático del envés (55.8 %) y en el ancho de estomas del envés (21.8 µm).

A los 90 días después de la siembra, el análisis registró cuadro conglomerados con una distancia de ligamiento de 10, ubicando nuevamente a los testigos triticale, avena y la cebada cv. Cerro prieto en diferentes grupos (Figura 7.14), caracterizados por presentar diferentes valores entre ellos y al resto de los genotipos. Del otro lado, las líneas progenie y los testigos trigo y cebada cv. GABYAN95 presentaron características similares. Sin embargo, trigo presentó mayor valor en el índice de vejtación diferencial normalizado (0.76).

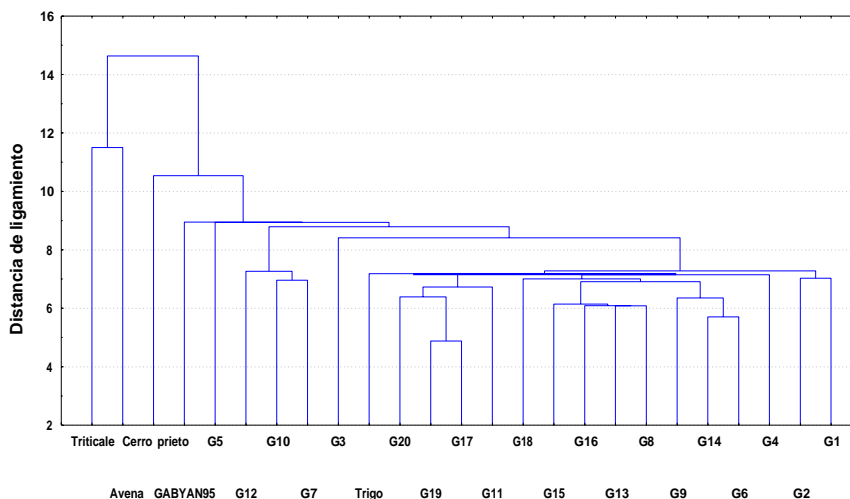


Figura 7.14 Agrupamiento de genotipos evaluados a los 90 dds en la estabilidad de carácter *stay green*

mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 10

Cabe señalar que las líneas progenie G17 y G19 presentaron una distancia de ligamiento menor (Figura 7.14), posiblemente porque presentaron valores similares en la temperatura de dosel (27.4 °C), en el índice de vegetación diferencial normalizado (0.53), en el índice estomático del haz (55.9%) y en el ancho de estomas del envés (22.14  $\mu\text{m}$ ). Otra distancia de ligamento fue entre las progenies G14 y G6, por presentar resultados similares en la altura de la planta (117 cm) y el índice de verdor (0.61).

#### 7.1.5 Análisis de conglomerados de genotipos en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada a través de localidades y días de muestreo

Se registraron siete grupos de interés cuyas características aparecen en la Tabla 7.9, formado el Grupo 1 por cuatro líneas G1, G6, G7 y G10, con los mayores valores de rendimiento de forraje (11.8 t ha<sup>-1</sup>), densidad estomática del haz y envés (DEH con 70.55 estomas/mm<sup>2</sup> y DEE con 66.33 estomas/mm<sup>2</sup>), pero menor índice estomático (IEH de 55.12 % y IEE de 54.64 %), así como los largos de estoma (LH con 50.15  $\mu\text{m}$  y LE con 51.65  $\mu\text{m}$ ).

Tabla 7.9 Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados en el análisis de conglomerados de las variables agronómicas y estudio estomático en la estabilidad del carácter *stay green*

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
n	4	3	7	1	1	4	5
TEMP	24.01 ±0.32	23.69 ±0.17	24.01 ±0.21	23.37	22.62	24.05 ±0.15	24.07 ±0.32
NDVI	0.699 ±0.032	0.75 ±0.01	0.68 ±0.02	0.68	0.79	0.70 ±0.018	0.70 ±0.02
ALT	105.73 ±1.38	102.22 ±2.93	104.05 ±2.45	103.33	89.58	106.25 ±3.65	107.92 ±1.59
ICC	44.96 ±1.41	49.23 ±4.69	45.32 ±1.26	52.72	43.47	45.60 ±1.73	44.32 ±0.68
DEH	70.55 ±1.67	64.33 ±3.39	64.2 ±2.49	57.74	62.78	62.56 ±2.73	65.26 ±1.79
IEH	55.12 ±0.58	55.97 ±0.27	56.07 ±0.91	58.55	56.60	57.11 ±0.67	55.87 ±0.63
LH	50.15 ±1.42	49.13 ±1.73	53.25 ±1.53	56.15	51.51	53.16 ±0.79	50.18 ±0.49
AH	23.63 ±1.40	24.78 ±1.49	23.51 ±1.04	29.10	22.50	23.19 ±0.82	22.46 ±0.67
DEE	66.33 ±2.032	65.04 ±3.45	57.83 ±2.14	62.15	56.74	66.46 ±5.19	59.96 ±1.27
IEE	54.64 ±0.54	55.27 ±0.11	57.10 ±0.88	56.97	58.27	53.89 ±1.47	56.14 ±0.89
LE	51.65 ±1.35	52.66 ±0.33	54.5 ±0.97	54.65	53.29	52.89 ±1.86	52.64 ±1.37
AE	21.62 ±0.29	22.84 ±1.42	22.56 ±0.97	25.70	23.08	21.85 ±0.57	21.26 ±0.58
REND	11.80 ±0.45	9.79 ±1.095	11.74 ±0.67	8.50	9.02	11.80 ±0.58	11.75 ±0.31

TEMP=Temperatura de dosel (°C); NDVI=Índice de verdor diferencial normalizado; ALT= Altura de planta (cm); ICC= Índice de contenido de clorofila (Spad); DEH=Densidad estomática del haz(estomas/mm<sup>2</sup>); IEH=Índice estomática del haz (%); LH=Largo de estoma del haz ( $\mu\text{m}$ ); AH=Ancho de estoma del haz ( $\mu\text{m}$ ); DEE= Densidad

estomática del envés(estomas/mm<sup>2</sup>); IEE=Índice estomático de envés (%); LE= Largo del estoma del envés (µm); AE=Ancho del estoma del envés (µm); REND= Rendimiento de forraje (t ha<sup>-1</sup>).

El Grupo 2 integrado por los testigos G21 (avena cv. Cuauhtémoc, G22 (cv. Cerro prieto) y G23 (cv. GABYAN95), presentó el mayor índice de contenido de clorofila (49.23 Spad), con menor altura de planta (102.2 cm), largo de estomas del haz (49.13 µm) y rendimiento de forraje (9.79 t ha<sup>-1</sup>).

El Grupo 3 se conformó por las progenies G8, G9, G11, G14, G17, G19 y G20 (Tabla 7.9), con altos valores en el índice estomático y longitud de estoma del envés (57.10 % y 54.4 µm, respectivamente), así como alto rendimiento de forraje (11.74 t ha<sup>-1</sup>), pero con menores valores de NDVI (0.68) y densidad estomática del haz (64.2 µm).

Los Grupos 4 y 5 se formaron por los testigos triticale y trigo, respectivamente (Tabla 7.9), destacándose el triticale por presentar mayores valores en el contenido de clorofila (52.72 Spad), en el índice estomático (58.55 %), largo (56.15 µm) y ancho (29.10 µm) de estomas en el haz, pero con menor rendimiento de forraje (8.5 t ha<sup>-1</sup>).

El testigo trigo presentó el mayor índice estomático (58.27 %) y ancho (23.08 µm) de estomas en el envés, así como el mayor índice de vegetación diferencial normalizado (0.79), y con los menores valores de altura de planta (89.6 cm), contenido de clorofila (43.47 Spad), ancho de estomas del haz (22.5 µm), densidad estomática del envés (56.74 estomas/mm<sup>2</sup>) y rendimiento de forraje (9.02 t ha<sup>-1</sup>).

Con respecto al Grupo 6, se integró por las progenies G3, G5, G15 y G18, que registraron los mayores valores de altura de plántula (106.25 cm), índice estomático (57.11 %) y largo de estomas (53.16 µm) del haz, así como de la densidad estomática del envés (66.46 estomas/mm<sup>2</sup>) y rendimiento de forraje con 11.8 t ha<sup>-1</sup> (Tabla 7.9).

Finalmente, el Grupo 7 fue integrado por las progenies G2, G4, G12, G13 y G16, con los altos valores de altura de planta (107.92 cm), densidad estomática del haz (65.26 estomas/mm<sup>2</sup>) y de rendimiento de forraje (11.75 t ha<sup>-1</sup>), pero menor valor en los anchos de estomas del haz (22.46 µm) y del envés (21.26 µm).

Las comparaciones entre los grupos evidenciaron a las características estomáticas causantes en la distinción entre los grupos, así al comparar el Grupo 1 con el Grupo 6, ambos presentaron rendimientos de 11.8 t ha<sup>-1</sup> de forraje, pero se diferenciaron estadísticamente en la densidad, índice estomático, así como en el largo del estoma de la

superficie del haz, donde el Grupo 6 fue superior en el índice estomático y largo del estoma del haz.

La comparación del Grupo 3 con el Grupo 7 mostró diferencias en la altura de planta, largos de estoma del haz y envés, siendo superior el Grupo 7 con mayor altura, pero menor longitud de estomas en ambas superficies. En la comparación del Grupo 1 y el Grupo 7, se diferenciaron en la densidad estomática del haz y envés y en el índice estomático del envés, donde el Grupo 1 presentó los mayores valores en las densidades estomáticas, pero menor valor índice estomática.

El Grupo 3 y el Grupo 6 mostraron diferencias en la densidad e índice estomática de la superficie del envés, donde las progenies del Grupo 3 tuvieron mayor densidad estomática y menores índices.

En cuanto a la comparación del Grupo 3 con el Grupo 7, presentaron diferencias en la altura de planta, en la densidad estomática del envés y en el largo de estomas del haz, donde G7 obtuvo la mayor altura de planta y densidad estomática del envés. Sin embargo, ambos grupos presentaron un rendimiento similar.

## 7.2 Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

### 7.2.1 Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semillas

#### 7.2.1.1 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de rendimiento y calidad física de semillas

Los resultados indicaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en las localidades, genotipos y en la interacción localidad por genotipos (Loc\*Geno), con un promedio para el rendimiento de semillas de  $1.57 \text{ t ha}^{-1}$ , contenido de humedad de 11.4%, peso volumétrico de  $51.6 \text{ kg HL}^{-1}$  y peso de mil semillas de 39 g. (Tabla 7.10)

En la prueba de comparación de medias entre las localidades, en Zaragoza-Coahuila, en el ciclo de producción de otoño-invierno del 2017-2018, se presentaron los mayores valores de rendimiento de semillas ( $2.72 \text{ t ha}^{-1}$ ) y peso de mil semillas (43.9 g),

así como el menor contenido de humedad en la semillas (9.9%), como se muestra en la Tabla 7.10.

Tabla 7.10 Cuadrados medios, nivel de significancia y comparación de medias entre localidades de rendimiento y calidad física de semillas en la selección de progenies

<b>Fuentes de variación</b>	<b>gL</b>	<b>RENDS</b>	<b>CH</b>	<b>PV</b>	<b>PMS</b>
Localidades	2	76.121**	116.639**	1847.775**	1379.640**
Rep(Loc)	6	0.152**	0.081 <sup>NS</sup>	710.594*	14.581**
Genotipos	24	01.023**	1.653**	298.049**	132.152**
Loc*Geno	48	0.759**	1.015**	37.426**	44.311**
E. Exp.	144	0.084	0.527	6.819	4.159
Media		1.57	11.4	51.6	39.0
Desv. Estándar		±0.29	±0.73	±2.57	±2.04
R <sup>2</sup>		0.95	0.81	0.93	0.93
% CV		18.4	6.38	4.99	5.22
<b>Comparación de medias entre localidades</b>					
Navidad-Nuevo León 2017		0.81 c	11.9 b	47.8 c	36.4 b
Zaragoza-Coahuilal 2017		1.19 b	12.3 a	49.7 b	36.7 b
Zaragoza-Coahuila 2018		2.72 a	9.9 c	57.2 a	43.9 a

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); <sup>NS</sup> No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Coeficiente de variación; Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P < 0.05$ ); RENDS= Rendimiento de semilla ( $t\ ha^{-1}$ ); CH= Contenido de humedad (%); PV= Peso volumétrico ( $Kg\ HL^{-1}$ ); PMS= peso de mil semillas (g).

Entre los genotipos, se registraron ocho grupos estadísticos en el rendimiento de semillas (RENDS). El primer grupo estadístico está formado por 16 genotipos, de los cuales las líneas de cebada G16, G19, G9, G18, G7, G1 y G5 tuvieron los mayores rendimientos de semilla de 1.6 a 1.9  $t\ ha^{-1}$ , incluyendo a los testigos triticale y trigo (Tabla 7.11). En el último grupo estadístico, se encontraron a los testigos G23 (GABYAN95) y G21 (avena) con los rendimientos de semilla más bajos de 0.87 y 0.25  $t\ ha^{-1}$ , respectivamente.

En el contenido de humedad de semillas, se obtuvieron seis grupos estadísticos, donde la mayoría de los genotipos presentaron los mayores valores de 11.27 a 11.9% (Tabla 7.11). Sin embargo, la línea G1 y los testigos G24 (trigo) y G21 (avena) obtuvieron los mejores porcentajes por presentar los valores más bajos de 9.8 a 10.9 %. Para el peso volumétrico, se indicaron ocho grupos estadísticos, formando los primeros cinco grupos los testigos G24 (trigo), G25 (triticale), G22 (cebada cv. Cerro prieto) y las líneas de cebada G15 y G7, con valores de 51.43 a 74.32  $kg\ HL^{-1}$  (Tabla 7.11).



Tabla 7.11 Comparación de medias entre genotipos de rendimiento y calidad física de semillas en la selección de progenies sobresalientes

<b>Genotipo</b>	<b>RENDS (tha<sup>-1</sup>)</b>	<b>CH (%)</b>	<b>PV (KgHl<sup>-1</sup>)</b>	<b>PMS (g)</b>
G1	1.7107 abcde	10.9811 de	49.211 efg	32.9578 g
G2	1.4927 ef	11.5444 abcde	49.608 defg	42.7556 abc
G3	1.5991 abcdef	11.27 abcde	48.901 fgh	42.9211 a
G4	1.566 cdef	11.5111 abcde	49.757 defg	40.9978 bc
G5	1.6122 abcdef	11.5111 abcde	49.277 efg	41.0144 bc
G6	1.5127 def	11.76 ab	50.072 defg	41.1711 abc
G7	1.7684 abcd	11.5144 abcde	51.431 de	42.8244 ab
G8	1.6782 abcdef	11.7178 abc	51.081 def	40.7633 cd
G9	1.8329 abc	11.1411 bcde	49.989 defg	40.45 cdef
G10	1.572 cdef	11.46 abcde	50.436 def	41.0422 abc
G11	1.5822 cdef	11.0589 cde	46.852 h	39.76 cdef
G12	1.4324 f	11.53 abcde	49.324 efg	38.6067 f
G13	1.6104 abcdef	11.2778 abcde	47.84 gh	40.9811 bc
G14	1.5884 bcdef	11.8689 a	49.854 defg	40.2156 cdef
G15	1.7058 abcde	11.2822 abcde	51.769 d	41.4244 abc
G16	1.8636 a	11.8333 a	50.183 defg	39.94 cdef
G17	1.6471 abcdef	11.7922 ab	49.887 defg	39.9011 cdef
G18	1.8122 abc	11.6444 abcd	49.94 defg	40.7033 cde
G19	1.8553 ab	11.4711 abcde	48.969 fgh	38.8967 def
G20	1.6289 abcdef	11.8289 a	50.394 def	39.6989 cdef
G21 (Avena)	0.2496 h	9.8333 f	49.37 efg	30.7867 h
G22 (Cerro Prieto)	1.6722 abcdef	11.1189 bcde	55.478 c	33.6222 g
G23 (GABYAN95)	0.8762 g	11.4878 abcde	50.521 def	38.8044 ef
G24 (Trigo)	1.7149 abcde	10.9322 e	74.329 a	27.3367 i
G25 (Triticale)	1.782 abcd	11.0267 de	64.396 b	38.6211 f

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P<0.05). RENDS= Rendimiento de semilla; CH= Contenido de humedad; PV=Peso volumétrico; PMS=peso de mil semillas.

En el peso de mil semillas, se encontraron nueve grupos estadísticos, las líneas G3, G7, G2, G15, G6 y G10 obtuvieron los mayores pesos de 41.04 a 42.92 g, formando el primer grupo estadístico (Tabla 7.11); los testigos G24 (trigo) y G21 (avena) presentaron los valores más bajos de 27.3 y 30.7 g respectivamente, ubicados en los últimos grupos estadísticos.

#### 7.2.1.2 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de la calidad fisiológica de semillas

En la calidad fisiológica de semillas, se encontraron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01\%$ ) en las variables estudiadas, con promedios de plántulas

normales (PN) de 91.9 %, plántulas anormales (PA) de 1.5%, semillas sin germinar (SSG) de 6.6 %, longitud media de plúmula (LMP) de 10.6 cm pl<sup>-1</sup>, longitud media de radícula (LMR) de 12.04 cm pl<sup>-1</sup> y peso seco de plántula (PS) de 18.4 mg pl<sup>-1</sup> (Tabla 7.12). Cabe señalar que los coeficientes de variación de PA y SSG resultaron con valores de porcentaje muy altos (150.7 y 71.7%, respectivamente), debido a que en algunos datos registrados durante el estudio, tuvieron valores de cero por ciento, resultando una gran distancia en la variación de una observación a otra.

Tabla 7.12 Cuadrados medios y nivel de significancia, de la capacidad de germinación y vigor de semillas en la selección de progenies

Fuente de variación	gL	PN	PA	SSG	LMP	LMR	PS
Localidades	2	1381.617**	156.057**	608.591**	36.121**	438.896**	717.611**
Rep(Loc)	6	52.147*	6.137NS	36.706*	3.363**	5.858**	56.965**
Genotipos	24	348.845**	20.342**	268.528**	22.048**	9.573**	60.027**
Loc*Geno	48	230.701**	9.456**	189.758**	4.636**	3.074**	60.358**
Error. Exp.	144	29.864	5.036	22.479	0.948	1.283	21.377
Media		91.9	1.5	6.6	10.6	12.04	18.4
Desv. Est.		±5.46	±2.24	±4.74	±0.97	±1.13	±62
R <sup>2</sup>		0.84	0.64	0.84	0.86	0.87	0.66
% CV		5.95	150.72	71.74	9.17	9.4	25.16

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); <sup>NS</sup> No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Coeficiente de variación; PN=Plántulas Normales (%); PA= Plántulas Anormales (%); SSG= Semillas sin Germinar (%); LMP=Longitud Media de Plúmula (cm pl<sup>-1</sup>); LMR= Longitud Media de Radícula (cm pl<sup>-1</sup>); PS=Peso Seco de plántula (mg pl<sup>-1</sup>).

En la comparación entre localidades, Navidad-Nuevo León y Zaragoza Coahuila presentaron altos valores de plántulas normales (Tabla 7.13). Sin embargo, en Zaragoza-Coahuila en el ciclo 2018-2019, se tuvo un 7% menos de capacidad de germinación, en las plántulas normales (87 %), pero mayor porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar ( 3.1 y 9.9%, respectivamente).

Tabla 7.13 Comparación de medias entre localidades de la capacidad de germinación y vigor de semillas en la selección de progenies

Localidad	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	LPM (cm pl <sup>-1</sup> )	LMR (cm pl <sup>-1</sup> )	PS (mg pl <sup>-1</sup> )
Navidad-Nuevo León 2017	94.7 a	0.8 b	4.5 b	10.22 b	12.84 b	17.79 b
Zaragoza-Coahuila 2017	94.0 a	0.5 b	5.5 b	11.42 a	9.33 c	15.62 c
Zaragoza-Coahuila 2018	87.0 b	3.1 a	9.9 a	10.22 b	13.96 a	21.72 a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P < 0.05$ ). PN=Plántulas Normales; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP=Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PS=Peso Seco de plántula.

Con respecto a la comparación de medias entre los genotipos, en la capacidad de germinación de plántulas normales (PN), se encontraron seis grupos estadísticos, formando el primer grupo por la mayoría de los genotipos de 92.2 a 96.4% (Tabla 7.14), donde las líneas de cebada G3, G20, G1, G12 y G16, así como el testigo G22 (cebada cv. Cerro prieto) tuvieron los mayores porcentajes, mientras que la línea G11 y los testigos G24 (trigo), G25 (triticale) y G21 (avena) se ubicaron en los tres últimos grupos estadísticos con los valores más bajos de 72.5 a 83.1%.

Tabla 7.14 Comparación de medias entre genotipos de la capacidad de germinación y vigor en la selección de progenies

<b>Genotipo</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SSG (%)</b>	<b>LMP (cmpl<sup>-1</sup>)</b>	<b>LMR (cmpl<sup>-1</sup>)</b>	<b>PS (mgpl<sup>-1</sup>)</b>
G1	96.111 a	0.556 efg	3.222 efg	10.3111 ef	11.6667 efghij	17.868 b
G2	92.889 abc	2.111 bcdef	4.556 efg	11.0667 cde	12.1333 cdefg	18.028 b
G3	96.444 a	0.444 efg	3.111 fg	12.0444 ab	12.3778 cdef	17.8 b
G4	95.778 a	0.111 fg	4.111 efg	12.2444 a	12.7556 cd	16.184 bc
G5	89.333 c	1.556 cdefg	9.111 cd	10.6 ef	11.9222 defghi	18.709 b
G6	92.889 abc	1.444 cdefg	5.667 defg	10.7111 def	11.6778 efghij	16.957 b
G7	94.556 ab	1 cdefg	4.889 defg	11.7444 abc	12.7 cde	24.777 a
G8	93.222 abc	2.222 bcde	4.556 efg	11.6222 abc	12.3889 cdef	25.656 a
G9	92.222 abc	0.667 defg	7 def	10.6778 def	12.8333 cd	20.214 b
G10	93.333 abc	0.111 fg	6.556 def	10.5444 ef	12.0667 defgh	18.112 b
G11	83.444 d	2.667 bcd	13.778 b	9.8556 f	10.9556 ijk	19.607 b
G12	95.889 a	1.333 cdefg	2.778 fg	10.3556 ef	11.2556 ghijk	16.723 bc
G13	95.667 a	0.889 cdefg	3.444 efg	11.7333 abc	11.1556 ghijk	18.343 b
G14	95.444 a	1.333 cdefg	3.222 efg	10.9556 cde	10.5889 k	19.824 b
G15	95 a	1.333 cdefg	3.667 efg	11.8111 abc	11.8444 defghi	19.07 b
G16	95.778 a	0.444 efg	3.778 efg	11.2111 bcde	10.7556 jk	16.456 bc
G17	93.889 abc	0 g	6.111 def	11.8 abc	12.0222 defgh	18.387 b
G18	95 a	0 g	4.333 efg	11.6778 abc	11.0556 hijk	18.976 b
G19	94.556 ab	1.778 bcdefg	3.667 efg	10.6444 def	11.1222 ghijk	17.123 b
G20	96.444 a	0.111 fg	3.444 efg	11.5111 abcd	11.2778 ghijk	19.428 b
G21 (Avena)	72.556 f	1.444 cdefg	26.444 a	6.2 h	11.5 fghijk	17.624 b
G22 (Cerro Prieto)	96.111 a	2.222 bcde	1.667 g	11.0444 cde	14.9444 a	16.657 bc
G23 (GABYAN95)	89.556 bc	2.778 bc	7.556 de	10.9333 cde	12.8778 cd	17.027 b
G24 (Trigo)	83.111 d	3.667 b	13.111 bc	7.5444 g	14.0556 ab	12.444 c
G25 (Triticale)	77.667 e	7 a	15.444 b	6.7222 gh	13.1222 bc	17.402 b

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P<0.05). PN=Plántulas Normales; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP=Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PS=Peso Seco de plántula

En las plántulas anormales y semillas sin germinar, se encontraron siete grupos estadísticos (Tabla 7.14), donde el testigo G25 (triticale) presentó el mayor valor de

plántulas anormales de 7%, ubicado en el primer grupo estadístico, seguidos la mayoría de los genotipos con valores por debajo de 3.6%, mientras que las líneas G3, G4, G10, G16, G17, G18 y G20 resultaron con valores por debajo del 0.5% formando el último grupo estadístico, siendo mejores en la capacidad de germinación, por tener bajos porcentajes de estas variables.

En las semillas sin germinar, el testigo G21 (avena) resultó con el mayor porcentaje de 26.4%, mientras que los testigos G25 (triticale) y G24 (trigo) y la línea de cebada G11 presentaron valores de 13.1 a 15.4% (Tabla 7.14).

Sin embargo, el resto de las líneas y los testigos de cebada cv. GABYAN95 (G23) y cv. Cerro prieto (G22) resultaron con porcentajes por debajo de 5%, confirmando su buena capacidad de germinación.

En cuanto el vigor de la semilla, en la longitud media de plúmula se encontraron ocho grupos estadísticos (Tabla 7.14), destacando las líneas de cebada G4, G3, G15, G17, G7, G13, G18, G8 y G20 con valores de 12.2 a 11.5 cm pl<sup>-1</sup> y formando el primer grupo estadístico, mientras que los testigos G25 (triticale) y G21 (avena) resultaron con los valores más bajos de 6.7 y 6.2 cm pl<sup>-1</sup>, respectivamente.

En la longitud media de radícula, se registraron once grupos estadísticos, el primer grupo está formado por los testigos G22 (cebada cv. Cerro prieto) y G24 (trigo) con 11.5 y 10.6 cm pl<sup>-1</sup>, respectivamente, seguidos por G25 (triticale) y G23 (cebada cv. GABYAN95) con 13.12 y 12.87 cm pl<sup>-1</sup>, cada uno. El resto de las líneas de cebada obtuvieron valores por debajo de 12.8 cm pl<sup>-1</sup>, con un vigor de plántula inferior a los testigos (Tabla 7.14).

En el peso seco de plántula (PS) se encontraron tres grupos estadísticos, donde las líneas de cebada G8 y G7 resultaron con los mayores valores de 25.6 y 24.7 mg pl<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabla 7.14), seguidos por la mayoría de los genotipos. Además las líneas G12, G16, G4 y los testigos G22 (cebada cv. Cerro prieto) y G24 (trigo) presentaron los pesos más bajos de 12.4 a 16.7 mg pl<sup>-1</sup>, los cuales formaron el último grupo estadístico.

Respecto a las variables evaluadas después del envejecimiento acelerado de semilla, se registraron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01\%$ ), con promedios de plántulas normales (EAPN) de 54.2 %, plántulas anormales (EAPA) de 5.6 %, semillas

sin germinar (EASSG) de 39.7 %, longitud media de plúmula (EALMP) de 5.5 cm pl<sup>-1</sup> y longitud media de radícula (EALMR) de 10.7 cm pl<sup>-1</sup> (Tabla 7.15).

Tabla 7.15 Cuadrados medios y nivel de significancia de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies

Fuente de variación	gL	EAPN (%)	EAPA (%)	EASSG (%)	EALMP (cmpl <sup>-1</sup> )	EALMR (cmpl <sup>-1</sup> )
Localidades	2	35802.098**	606.72**	27981.724**	801.874**	1477.938**
Rep(Loc)	6	61.155 <sup>NS</sup>	4.053 <sup>NS</sup>	976.231 <sup>NS</sup>	0.668 <sup>NS</sup>	1.229 <sup>NS</sup>
Genotipos	24	643.111**	38.518**	610.352**	13.325**	20.001**
Loc*Geno	48	470.542**	48.794**	422.761**	8.859**	12.244**
Error. Exp.	144	107.452	22.275	126.971	1.258	2.073
Media		54.2	5.6	39.7	5.5	10.7
Desv. Est.		±10.4	±4.7	±11.2	±1.12	±1.44
R <sup>2</sup>		0.88	0.58	0.83	0.93	0.93
% CV		19.11	84.2	28.3	20.5	13.5

\*\* Altamente significativo (p≤0.01); \* Significativo (p≤0.05); <sup>NS</sup> No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Coeficiente de variación; EAPN=Plántulas Normales; EAPA= Plántulas Anormales; EASSG= Semillas sin Germinar; EALMP=Longitud Media de Plúmula; EALMR= Longitud Media de Radícula

En las pruebas después del envejecimiento acelerado, Zaragoza-Coahuila en el ciclo 2018-2019 presentó la mayor capacidad de germinación con 71 % de plántulas normales, longitud media de plúmula y radícula (EALMP y EALMR) con 8.04 y 13.73 cm pl<sup>-1</sup>, respectivamente, lo que puede indicar una localidad con buenas condiciones para la producción de semilla de calidad (Tabla 7.16).

Tabla 7.16 Comparación de medias entre localidades de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies

Localidad	EAPN (%)	EAPA (%)	EASSG (%)	EALMP (cmpl <sup>-1</sup> )	EALMR (cmpl <sup>-1</sup> )
Navidad-Nuevo León 2017	30.0 c	9.0 a	61.0 a	1.78 c	5.57 c
Zaragoza-Coahuila 2017	63.0 b	3.5 b	33.5 b	6.56 b	12.69 b
Zaragoza-Coahuila 2018	71.0 a	4.5 b	24.5 c	8.04 a	13.73 a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P<0.05). EAPN=Plántulas Normales; EAPA= plántulas Anormales; EASSG= Semillas sin Germinar; EALMP=Longitud Media de Plúmula; EALMR= Longitud Media de Radícula

En la capacidad de germinación después del envejecimiento acelerado, en las plántulas normales (EAPN) se obtuvieron diez grupos estadísticos, formando el primer grupo por las líneas G2, G1, G4, G3 y el testigo G21 (avena) con los mayores valores de 62 a 72% (Tabla 7.17), mientras que el último grupo lo formaron las líneas G19, G7, G5 y G6 con valores por debajo del 50%.

En las plántulas anormales (EAPA) se obtuvieron seis grupos estadísticos, donde los testigos G24 (trigo), G22 (cebada cv. Cerro prieto), G25 (triticale) y G21 (avena), así como las líneas G14, G19 y G16 con valores de 7 a 11.1%, formaron el primer grupo estadístico. La mayoría de las líneas de cebada presentaron valores por debajo del 6%, formando los últimos grupos estadísticos (Tabla 7.17).

Tabla 7.17 Comparación de medias entre genotipos de la capacidad de germinación y vigor después del Envejecimiento Acelerado (EA) de semillas en la selección de progenies

Genotipo	EAPN (%)	EAPA (%)	EASSG (%)	EALMP (cmpl <sup>-1</sup> )	EALMR (cmpl <sup>-1</sup> )
G1	68.4 ab	2.7 ef	28.9 ij	7.94 ab	12.33 ab
G2	72.00 a	3.1 def	24.9 j	8.32 a	12.74 a
G3	62.7 abcd	2.2 f	35.1 fghij	7.078 bc	12.93 a
G4	67.1 abc	4.0 cdef	28.9 ij	7.91 ab	10.202 cdef
G5	42.7 ij	5.8 bcdef	50.2 abc	4.63 ghi	13.04 a
G6	38.2 j	4.9 bcdef	56.9 a	3.39 j	9.78 def
G7	43.6 hij	4.0 cdef	52.4 ab	4.3444 ij	9.51 defg
G8	50.7 efghi	5.8 bcdef	43.6 bcdef	4.91 efghi	10.53 cd
G9	51.1 efghi	3.6 cdef	45.3 bcdef	5.41 defgh	10.16 cdef
G10	52.9 efgh	2.7 ef	44.4 bcdef	5.71 def	9.69 def
G11	52.9 efgh	6.7 bcde	38.2 efghi	5.21 defghi	9.42 defg
G12	58.2 cdef	4.4 bcdef	37.3 efghi	6.23 cd	10.44 cd
G13	51.1 efghi	6.2 bcdef	42.7 bcdefg	5.056 efghi	8.87 fg
G14	48.9 fghi	7.6 abc	38.2 efghi	4.60 ghi	10.23 cde
G15	59.6 bcde	5.3 bcdef	32.0 hij	5.93 de	10.41 cd
G16	51.6 efghi	7.1 abcd	41.3 cdefgh	5.02 efghi	10.21 cde
G17	48.0 ghi	5.3 bcdef	46.7 abcde	4.53 hi	8.94 efg
G18	55.1 defg	6.2 bcdef	38.7 defghi	5.61 defg	9.22 defg
G19	44.0 hij	7.1 abcd	48.9 abcd	4.68 fghi	9.59def
G20	52.4 efgh	5.3 bcdef	42.2 bcdefgh	5.58 defgh	8.22 g
G21 (Avena)	66.2 abc	7.6 abc	26.7 j	4.83 fghi	11.29 bc
G22 (Cerro Prieto)	59.6 bcde	8.4 ab	32.0 hij	5.43 defgh	12.96 a
G23 (GABYAN95)	50.7 efghi	5.3 bcdef	44.0 bcdef	4.88 fghi	10.47 cd
G24 (Trigo)	56.0 defg	11.1 a	32.9 ghij	5.03 efghi	13.13 a
G25 (Triticale)	52.0 efghi	7.6 abc	40.4 cdefgh	4.21 ij	12.29 ab

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel (P<0.05). EAPN=Plántulas Normales después del EA; EAPA= Plántulas Anormales después del EA; EASSG= Semillas sin Germinar después del EA; EALMP=Longitud Media de Plúmula después del EA; EALMR= Longitud Media de Radícula después del EA.

En cuanto a las semillas sin germinar (EASSG) se encontraron diez grupos estadísticos, donde las líneas G1, G2 y G4 presentaron los valores más bajos (de 24.8 a 28.8%), mientras que el resto de los genotipos obtuvo valores por arriba del 30%. Por otra parte, en la longitud media de plúmula y radícula (EALMP y EALMR), se registraron diez y siete grupos estadísticos, respectivamente (Tabla 7.17), formando las líneas G1, G2, G4, G10, G12 y G15 el primer grupo estadístico con valores de 7.9 a 8.3 cm pl<sup>-1</sup> en longitud de plúmula, y en la longitud de radícula, las líneas progenie G1, G2,

G3 y G5 junto con los testigos G22 (cebada cv. Cerro prieto), G24 (trigo) y G25 (triticale) resultaron con las mayores longitudes de raíz de 12.3 a 13.1 cm pl<sup>-1</sup>.

### 7.2.1.3 Análisis de conglomerados de variables y genotipos en el rendimiento y calidad de semillas

El dendograma de la agrupación de las variables en la calidad de semillas indicó tres grupos asociados a una distancia de 100 (Figura 7.15), siendo el primer grupo constituido por las plántulas normales (PN), seguido del grupo formado por las plántulas normales y las semillas sin germinar después del envejecimiento acelerado (EAPN y EASSG), así como los parámetros de la calidad física peso de mil semillas (PMS) y peso volumétrico (PV).

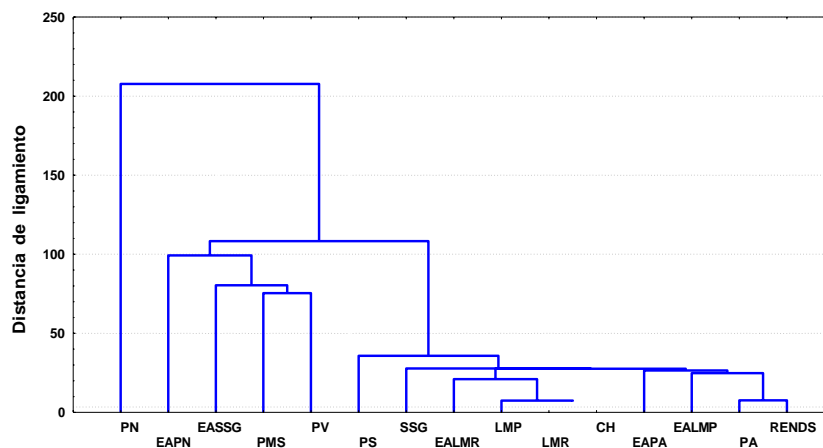


Figura 7.15 Agrupamiento de las variables: rendimiento y calidad de semillas en la selección de progenies sobresalientes, mediante el análisis de conglomerados (distancia de ligamiento 200)

El tercer grupo se integró por el resto de las variables, donde se encontraron algunas asociaciones interesantes por tener una menor distancia de ligamiento (Figura 7.15), como fueron el contenido de humedad con las longitudes medias de plúmula y radícula, así como las plántulas anormales con el rendimiento de semillas (RENDIS).

En el análisis de conglomerados entre los genotipos, se identificaron cuatro grupos con una distancia de ligamiento de 23 (Figura 7.16), ubicando en un grupo a los testigos G25 (triticale) y G24 (trigo), por presentar similar rendimiento de semillas (1.7 t ha<sup>-1</sup>),

semillas sin germinar (14.3 %) y longitud media de plúmula antes y después del envejecimiento acelerado (13.5 y 4.6 cm pl<sup>-1</sup>).

El testigo G21 (avena) se ubicó en un solo grupo, con el menor valor de plántulas normales (72.5%) y mayor de semillas sin germinar (26.4 %).

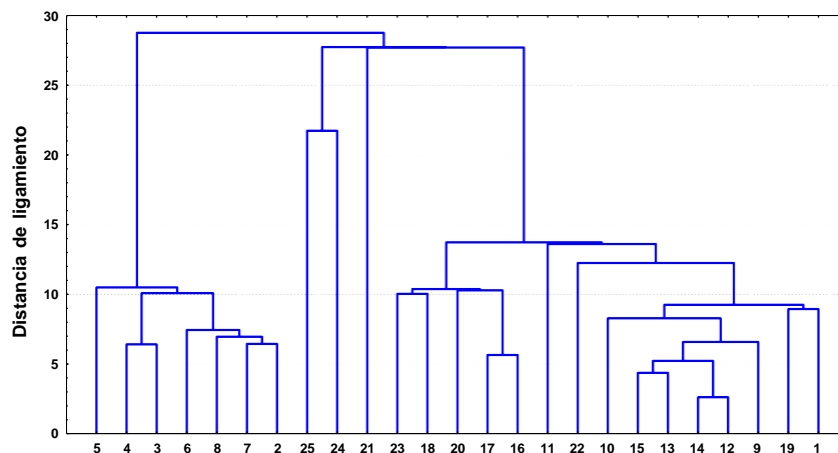


Figura 7.16 Agrupamiento de genotipos evaluados en la selección de progenies, mediante el análisis de conglomerados formando cuatro grupos a una distancia de 23

Las líneas progenies de cebada G2, G3, G4, G5, G6, G7 y G8 formaron un otro conglomerado (Figura 7.16), por presentar valores similares para contenido de humedad (11.5 %), peso volumétrico (49.7 KgHI<sup>-1</sup>), peso de mil semillas (41.5 g) y longitud media de radícula (11.9 cm pl<sup>-1</sup>).

El último grupo se formó por el resto de las progenies y los testigos G22 y G23 (Cerro prieto y GABYAN95), con valores similares en la calidad física en el contenido de humedad y peso de mil semillas (11.3 % y 49.5 Kg HI<sup>-1</sup>, respectivamente), en la capacidad de germinación por presentar los mayores porcentajes de plántulas normales arriba de 95 % y los menores porcentajes de plántulas anormales y semillas sin germinar debajo de 3 % (Figura 7.16).

Asimismo, las progenies G12 y G14 indicaron una asociación por encontrarse con menor distancia de ligamiento entre ellas, al compartir valores similares de rendimiento de semillas (1.4 t ha<sup>-1</sup>), calidad de semillas en el peso volumétrico (49.5 kg HI<sup>-1</sup>), plántulas normales (95.6 %), plántulas anormales (1.3 %) y longitud media de radícula después del envejecimiento acelerado (10.3 cm pl<sup>-1</sup>); y también la progenie G13 con



G15 que resultaron con valores similares en el contenido de humedad (11.2°C), peso de mil semillas (41.0 g), plántulas normales (95.0 %), semillas sin germinar (3.6 %).

Al realizar el análisis de conglomerados de los genotipos a través de las localidades, se identificaron cinco grupos de interés con características de calidad homólogas (Tabla 7.18).

Tabla 7.18 Número de integrantes (n), media y desviación estándar de grupos generados en el análisis de conglomerados en el rendimiento y calidad de semillas en la selección de progenies

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
n	13	1	7	2	2
RENDS	1.68 ±0.13	0.23±0.00	1.60 ±0.09	1.75 ±0.047	1.27 ±0.56
CH	11.47 ±0.31	9.83±0.00	11.55 ±0.16	10.99 ±0.063	11.29 ±0.26
PV	49.59 ±1.22	49.35±0.00	50.02 ±0.92	69.37 ±7.018	53.01 ±3.48
PMS	39.58 ±2.15	30.79±0.00	41.78 ±0.99	32.98 ±7.98	36.21 ±3.66
PN	94.07 ±3.38	72.59±0.00	93.57 ±2.34	80.37 ±3.87	92.89 ±4.61
PA	0.88 ±0.79	1.481±0.00	1.29 ±0.79	5.33 ±2.30	2.518 ±0.42
SSG	5.00 ±2.96	26.37±0.00	5.14 ±1.88	14.29 ±1.57	4.59 ±4.19
EAPN	63.49 ±9.21	82.67±0.00	25.46 ±5.72	64.44 ±3.14	70.22 ±11.94
EAPA	3.28 ±1.09	3.11±0.00	9.71 ±2.87	9.78 ±5.66	3.33 ±1.57
EASSG	33.02 ±8.82	14.22±0.00	64.32 ±7.01	25.78 ±2.51	23.78 ±9.74
PS	17.35 ±3.48	21.31±0.00	17.73 ±2.63	22.33 ±7.14	21.88 ±0.70
LMP	11.00 ±0.66	6.20±0.00	11.43 ±0.64	7.13 ±0.59	10.98 ±0.084
LMR	11.42 ±0.63	11.49±0.00	12.27 ±0.39	13.59 ±0.66	13.90 ±1.45
EALMP	6.84 ±1.46	10.11±0.00	1.22 ±0.51	6.21 ±0.52	8.24 ±1.06
EALMR	12.80 ±1.59	13.58±0.00	4.59 ±1.38	14.15 ±0.58	12.94 ±1.17

RENDS= Rendimiento de semilla; CH= Contenido de humedad; PV=Peso volumétrico; PMS=peso de mil semillas; PN=Plántulas Normales; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP=Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PS=Peso Seco de plántula; EAPN=Plántulas Normales después del EA; EAPA= plántulas Anormales después del EA; EASSG= Semillas sin Germinar después del EA; EALMP=Longitud Media de Plúmula después del EA; EALMR= Longitud Media de Radícula después del EA.

El Grupo 1 se conformó por 13 progenies de cebada, presentaron altos valores de peso de mil semillas (39.58 g), germinación en las plántulas normales (94.07%) y vigor en la longitud media de plúmula antes (11.0 cm pl<sup>-1</sup>) y después (6.84 cm pl<sup>-1</sup>) del envejecimiento acelerado, longitud media de radícula después del envejecimiento acelerado (12.8 cm pl<sup>-1</sup>), así como con alto rendimiento de semillas (1.68 tha<sup>-1</sup>).

En el Grupo 2, se ubicó el testigo G21 (avena), diferenciada del resto de genotipos por contener valores altos en el peso seco de plántulas (21.31 mg pl<sup>-1</sup>) y en los parámetros de vigor después del envejecimiento acelerado como plántulas normales (82.67%) y longitud media de plúmula (12.80 cm pl<sup>-1</sup>), así como los valores más bajos en el rendimiento de semilla (0.23 t ha<sup>-1</sup>), en el peso de mil semillas (39.58 g), en la

capacidad de germinación (72.5 % de plántulas normales) y en el vigor en la longitud media de plúmula (6.2 cm pl<sup>-1</sup>), como se describe en la Tabla 7.18.

El conglomerado con mayor número de integrantes fue el Grupo 3, formado por las progenies G2, G3, G4, G5, G6, G7, y G8 teniendo el más alto rendimiento de semillas (1.60 t ha<sup>-1</sup>), alta calidad física en el peso de mil semillas (41.78 g) y calidad fisiológica en las plántulas normales (93.57 %), así como alto vigor en la longitud media de plúmula (11.43 cm pl<sup>-1</sup>).

El Grupo 4 se formó por los testigos G25 (triticale) y G24 (trigo), con el mayor valor de rendimiento de semilla (1.75 t ha<sup>-1</sup>), peso volumétrico (69.37 KgHL<sup>-1</sup>), alto vigor en la longitud de radícula antes y después de envejecimiento acelerado (13.59 y 14.15 cm pl<sup>-1</sup>, respectivamente).

Por su parte, el Grupo 5 fue formado por los testigos de cebada G22 y G23 (variedades Cerro prieto y GABYAN95), con altos valores de peso volumétrico (53.01 Kg HL<sup>-1</sup>), porcentaje de plántulas normales antes y después del envejecimiento acelerado (92.89 y 70.22 %, respectivamente) y longitud media de radícula (13.90 cm pl<sup>-1</sup>), pero bajos valores en el rendimiento de semillas (1.27 t ha<sup>-1</sup>).

La comparación entre los grupos determinó la principal diferencia de los conglomerados. El Grupo 1 con Grupo 3 a pesar de resultar con similares rendimientos de semilla (1.6 t ha<sup>-1</sup>), tuvieron diferencias en la calidad física en el peso de mil semillas, presentando el Grupo 3 el mayor valor (41.78 g) que Grupo 1 y resto de los grupos; mientras que el Grupo 1 resultó con mayor calidad fisiológica en el vigor después del envejecimiento acelerado en plántulas normales (63.5 %) y longitud media de plúmula y radícula (6.8 y 12.8 cm pl<sup>-1</sup>). Así, al comparar el Grupo 4 con el resto de grupos, evidentemente produjo el mayor rendimiento de semillas (1.75 t ha<sup>-1</sup>) y calidad física en el peso volumétrico (69.37 Kg HL<sup>-1</sup>).

Al comparar el Grupo 3 con el Grupo 5, se diferenciaron en el vigor de la semilla, siendo el Grupo 5 con mayor porcentaje de plántulas normales después del envejecimiento acelerado con 70.22% y mayor longitud media de radícula antes y después del envejecimiento (13.9 y 12.9 cm pl<sup>-1</sup>, respectivamente).

## 7.2.2 Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de forraje

### 7.2.2.1 Calidad nutritiva de forraje en progenies sobresalientes

La evaluación de la calidad nutritiva de forraje de las progenies sobresalientes en la estabilidad del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semillas, registró el promedio de las localidades estudiadas, donde la mayoría de las líneas progenies presentó valores de proteína cruda (PC) de 15.7 a 18.5% (Tabla 7.19), mientras que los testigos G24 (trigo) y G25 (triticale) obtuvieron los mayores promedios con 19.1 y 19.8%, respectivamente.

Tabla 7.19 Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: proteína cruda, fibra detergente ácida y neutra, almidón, grasa cruda, etc., en la selección de progenies

Genotipo	No. de Identificación	PC (%)	FDA (%)	FDN (%)	DIG (%)	CNF (%)	ALM (%)	GC (%)	TND (%)
CANI-9	G2	17.8	36.9	55.5	70.5	16.3	4.4	2.1	57
CANI-10	G3	16.9	39.3	55.2	69.5	16.6	3.6	2.7	57
CANI-15	G4	16.5	35.7	55.4	69.5	17.4	1.4	2.2	57
CANI-82	G10	15.9	38.3	56.4	67.5	17.2	1.7	2.3	55
CANI-85	G11	17.9	36.5	57.2	71	15.1	0.6	2.3	58
CANI-99	G12	17.8	35.9	56.1	69.5	15.4	1.3	2.5	58.5
CANI-104	G14	16.7	38.6	55.3	71.5	15.5	2.1	2.3	58.5
CANI-108	G15	18.5	36.9	54.9	68.5	16	2.1	2.4	57.5
CANI-129	G18	16.9	36.1	55.9	69	17.9	1.1	2.2	58
CANI-130	G19	15.7	37.9	55.4	68	17.4	1.9	1.8	57.5
Avena	G21	17.4	37	53.6	80.5	13.3	1.9	2.9	57.5
Cerro Prieto	G22	16	37.4	58.5	70.5	16.1	1.2	2.4	59
GABYAN95	G23	17.4	36.8	52.8	75.5	17.8	2.9	3.1	60
Trigo	G24	19.1	37.2	55.4	77.5	11.3	0.9	3	59
Triticale	G25	19.8	35	53	76	14.9	1.8	3.1	60.5

PC=Proteína cruda; FDA= Fibra detergente ácida; FDN=Fibra detergente neutra; DIG=Digestibilidad *in vitro*; CNF=Carbohidratos no fibrosos; ALM=Almidón; GC=grasa cruda; TND= Total de nutrimentos digestibles.

En la fibra detergente ácida (FDA), la línea G3 presentó el mayor valor con 39.3% (Tabla 7.19), seguidas las líneas G10 y G14 con 38.3 y 38.6% cada una, mientras que el resto de las líneas progenie presentaron valores superiores al testigo G25 (triticale) que obtuvo 35%. Asimismo, la cebada comercial cv. Cerro prieto (G22) obtuvo el valor más alto de fibra detergente neutra (FDN) con 58.5%, mientras que el resto de cebadas varió entre 52.8 y 57.20%.

Con respecto a la digestibilidad *in vitro* (DIG), el testigo G21 (avena) seguido de G23 (GABYAN95) obtuvieron los valores más altos 67.5% hasta el 80.5% (Tabla 7.19).

En los carbohidratos no fibrosos del forraje (CNF), las líneas y testigos de cebada resultaron con valores de 15.1 a 17.8%, superando a los testigos G21 (avena), G24 (trigo) y G25 (triticale) quienes presentaron valores por debajo de 15%.

En el resultado del contenido de almidón (ALM), las líneas G3 y G2 presentaron los mayores valores con 3.6 y 4.4%, respectivamente, mientras que la línea G11 y el testigo G24 (trigo) resultaron con los valores más bajos de 0.6 y 0.9% cada uno.

En la grasa cruda (CG), los testigos G21 (avena), G23 (cv. GABYAN95), G24 (trigo) y G25 (triticale) exhibieron los mayores porcentajes de 2.9 a 3.1% (Tabla 7.19); además, resultó que estos tres últimos testigos, presentaron los mayores valores del total de nutrientes digestibles (TND), junto con el testigo de cebada cv. Cerro prieto (G22) teniendo porcentajes desde 59 a 60.5%.

En cuanto a la energía neta de lactancia (ENL), los testigos G23 (cv. GABYAN95) y G25 (triticale) presentaron un igual y mayor valor de 1.3 Mcal kg<sup>-1</sup> (Tabla 7.20); en la energía neta de mantenimiento, nuevamente G25 presentó un valor de 1.3 Mcal kg<sup>-1</sup>. Mientras que las líneas de cebada obtuvieron valores de 1.1 a 1.2 Mcal kg<sup>-1</sup> en ambas energías.

Tabla 7.20 Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: energías netas, valor relativo, calidad relativa y litros de leche en la selección de progenies

<b>Genotipo</b>	<b>No. de Identificación</b>	<b>ENL</b> Mcal kg <sup>-1</sup>	<b>ENM</b> Mcal kg <sup>-1</sup>	<b>ENG</b> Mcal kg <sup>-1</sup>	<b>VRF</b>	<b>CRF</b>	<b>LECHE</b> L t
CANI-9	G2	1.2	1.1	0.6	101	100	1477.5
CANI-10	G3	1.2	1.1	0.6	98	103	1404.5
CANI-15	G4	1.2	1.1	0.6	103	105.5	1453
CANI-82	G10	1.1	1.1	0.5	97	96.5	1369.5
CANI-85	G11	1.2	1.2	0.6	98.5	102.5	1524
CANI-99	G12	1.2	1.2	0.6	101.5	103.5	1532
CANI-104	G14	1.2	1.2	0.6	99	100.5	1342
CANI-108	G15	1.2	1.2	0.6	102.5	95.5	1519.5
CANI-129	G18	1.2	1.2	0.6	101.5	108.5	1512.5
CANI-130	G19	1.2	1.1	0.6	99.5	94.5	1330
Avena	G21	1.2	1.2	0.6	104	111	1520
Cerro Prieto	G22	1.2	1.2	0.6	95	115	1589
GABYAN95	G23	1.3	1.2	0.7	106	108	1527
Trigo	G24	1.2	1.2	0.6	100.5	81	1513.5
Triticale	G25	1.3	1.3	0.7	108.5	107	1629.5

ENL= Energía neta de lactancia; ENM= Energía neta de mantenimiento; ENG= Energía neta de ganancia; VRF= Valor relativo de forraje; CRF= Calidad relativa de forraje; LECHE= producción de leche por tonelada de materia seca.

En la energía neta de ganancia (ENG), las progenies junto con los testigos G21, G22 y G24 (avena, cebada cv. Cerro prieto y trigo) resultaron con valores de 0.5 a 0.6 Mcal kg<sup>-1</sup>, donde la línea de cebada G10 contuvo la energía más baja (Tabla 7.20).

En el valor relativo de forraje de la fibra detergente neutra dada a las 30 horas (VRF), los testigos G21 (avena), G23 (GABYAN95) y G25 (triticale) obtuvieron los mayores promedios de 104, 106 y 108.5, respectivamente (Tabla 7.20). En la calidad relativa de forraje (CRF), la línea G18 y los testigos G21 (avena), G22 (cv. Cerro prieto) y G23 (cv. GABYAN95) presentaron los mayores valores de 108 a 115.

Y en la producción de litros de leche (LECHE), el testigo G25 (triticale) resultó con la mayor cantidad de 1,629.5 L por tonelada de materia seca de forraje (Tabla 7.20), seguido el testigo G22 (cv. Cerro prieto) con 1,589 L, así como líneas de cebada G11, G12 y el testigo G23 (cv. GABYAN95) desde 1,520 a 1,532 L por tonelada de materia seca de forraje.

Los resultados promedio de las cenizas y minerales indicaron que los testigos G21 (avena) y G24 (trigo) obtuvieron el mayor porcentaje de cenizas de 16.6 y 15.8 %, respectivamente. Así mismo, en el contenido de fósforo (P), los testigos G21 (avena), G23 (cv. GABYAN95) y G25 (triticale) presentaron los mayores valores de 0.49, 0.45 y 0.41% cada uno (Tabla 7.21). Sin embargo, en calcio (Ca), las líneas de cebada G2, G14 y G19 resultaron con mayores valores desde 0.6 hasta 0.74%, estando todos los testigos por debajo de 0.59%.

En cambio, el testigo G21 (avena) resultó con los mayores valores en Mg, K y Cl (0.35, 4.46 y 1.87%, respectivamente), seguido por la línea G19 con 0.32% en Mg y 1.61% en Cl, y el testigo G21 (avena) con 1.87% de Cl.

Por otro lado, las líneas de cebada G4, G15, G18 y el testigo G22 (cv. Cerro prieto) resultaron con los valores más bajos de cloro desde 1.32 a 1.38 % (Tabla 7.20); así las líneas de cebada G2, G15 y el testigo G22 (cv. Cerro prieto) presentaron los valores más altos de azufre (S) de 0.4 a 0.41%, mientras que el testigo G24 (trigo) obtuvo el valor más bajo con 0.29%; seguido por G21 y G23 (avena y cv. GABYAN95) con valores de 0.34% y las líneas de cebada G10 y G12 con 0.35%.

Tabla 7.21 Valores promedio de la calidad nutritiva de forraje en: contenido de cenizas y minerales en la selección de progenies

<b>Genotipo</b>	<b>No. de Identificación</b>	<b>CZAS (%)</b>	<b>P (%)</b>	<b>Ca (%)</b>	<b>Mg (%)</b>	<b>K (%)</b>	<b>Cl (%)</b>	<b>S (%)</b>
CANI-9	G2	11.9	0.35	0.6	0.25	3.36	1.49	0.41
CANI-10	G3	12.5	0.38	0.54	0.27	3.09	1.74	0.38
CANI-15	G4	12.1	0.34	0.53	0.23	3.11	1.32	0.39
CANI-82	G10	11.7	0.38	0.59	0.25	3.31	1.48	0.35
CANI-85	G11	11.4	0.39	0.48	0.27	3.65	1.41	0.39
CANI-99	G12	11.5	0.39	0.5	0.24	3.71	1.39	0.35
CANI-104	G14	13.1	0.39	0.64	0.17	2.99	1.55	0.38
CANI-108	G15	11.8	0.39	0.59	0.22	3.39	1.36	0.41
CANI-129	G18	11.1	0.34	0.52	0.23	3.21	1.37	0.39
CANI-130	G19	13.4	0.39	0.7	0.32	3.12	1.61	0.39
Avena	G21	16.6	0.49	0.53	0.35	4.46	1.87	0.34
Cerro Prieto	G22	10.9	0.39	0.47	0.22	3.16	1.38	0.4
GABYAN95	G23	12.2	0.45	0.54	0.18	3.31	1.5	0.34
Trigo	G24	15.8	0.37	0.58	0.25	4.57	1.48	0.29
Triticale	G25	12.5	0.41	0.46	0.18	3.89	1.52	0.35

P= Fósforo; Ca= Calcio; Mg=Magnesio; K= Potasio; Cl= Cloruros; S= Azufre.

### 7.2.3 Análisis multivariados de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

Se consideraron en el análisis multivariado a través de componentes principales a las variables de la calidad nutritiva de forraje: proteína cruda (CP), fibra detergente ácida (FDA), Fibra detergente neutra (FDN), digestibilidad *in vitro* (DIG), total de nutrientes digestibles (TND), energías netas (ENL, ENM, ENG), valor relativo de forraje (VRF) y litros de leche (LECHE) y cenizas (CZAS), así como las variables de campo: rendimiento de forraje (REND), temperatura de dosel (TEMP), altura de planta (ALT), etapa fenológica (ETAPA), cobertura de suelo (COB), índice de contenido de clorofila (ICC) y el índice de vegetación normalizado (NDVI), con la finalidad de estimar la asociación e identificar a las mejores progenies.

El análisis de componentes principales (ACP) explicó con los primeros dos componentes (CP) un 75.67 % de la varianza total; el primer componente principal (CP1) contuvo un 49.16 % de la varianza total y explicó principalmente la relación entre el valor relativo de forraje con el total de nutrientes digestibles, litros de leche y las energías netas (ENL, ENM, ENG) establecida de manera positiva entre sí y negativa con el CP1.

También, se detectó la asociación positiva entre sí y con el componente de las variables agronómicas: etapa fenológica con altura y temperatura de la planta. Otra relación encontrada fue el contenido de proteína con mayor índice de vegetación y clorofila se tendrá menor contenido de fibras detergentes ácida y neutra.

En el segundo Componente 2 (CP2), explicó un 16.47 % de la varianza total y la relación positiva entre sí y negativa con el componente de la fibra detergente ácida y la neutra (FDA y FDN), así mismo, se encontró al índice de vegetación diferencial normalizado, cenizas y la digestibilidad *in vitro* en una relación positiva y negativo con los dos componentes.

Al graficar las variables en relación a los componentes principales, se apreció que el rendimiento de forraje se asoció positivamente con la altura de planta (ALT), etapa fenológica (ETAPA), temperatura del dosel (TEMP) y la cobertura del terreno (COB), sugiriendo que los genotipos más productivos fueron los de mayor cobertura y temperatura, más altos y precoces, características que se asociaron también a mayores contenidos de fibras (FDN y FDA), tal como se aprecia en la Figura 7.17. Sin embargo, los genotipos más rendidores no fueron los de mayor calidad, ya que todas las variables de la calidad nutritiva forrajera, contenido de clorofila (ICC) y el NDVI se ubicaron del lado derecho, en el cuadrante 1 de la Figura 7.17.

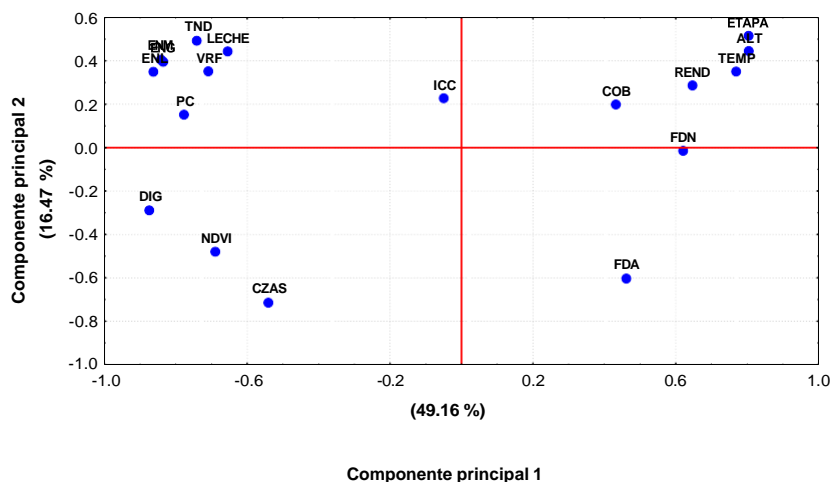


Figura 7.17 Componentes principales de las variables agronómicas y calidad nutritiva de forraje a los 90 días en la selección de progenies

Las relaciones entre variables dentro de cada cuadrante son positivas y entre cuadrantes son de tipo negativo. Las relaciones negativas más fuertes se presentaron

entre las variables del cuadrante 1 con las del cuadrante 3, y las del cuadrante 2 con las del cuadrante cuatro, de tal forma que al graficar los genotipos en el plano generado por los primeros componentes principales (Figura 7.18), se puede realizar una caracterización parcial de los genotipos. Además, se encontró una clara evidencia en la detección de las diferencias entre las cebadas y los testigos de otra especie, donde el triticale, trigo y avena se ubicaron lejos de la mayoría de las cebadas.

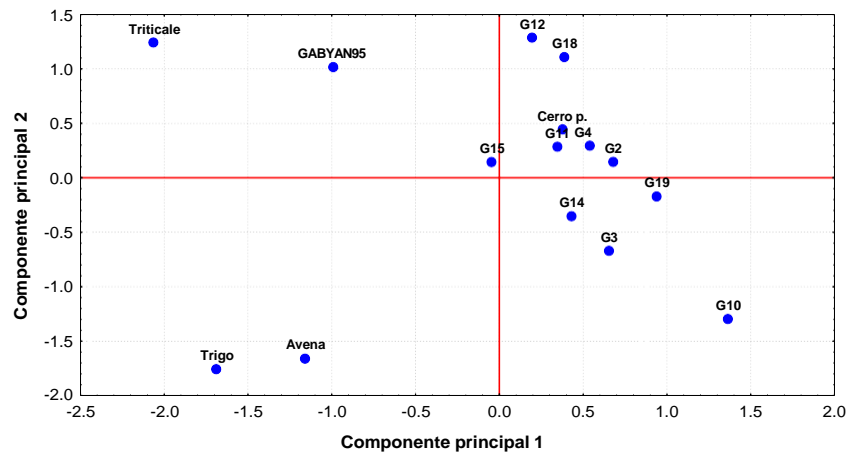


Figura 7.18 Componentes principales de los genotipos en base a las características agronómicas y calidad nutritiva de forraje a los 90 dds en la selección de progenies

Para identificar a los genotipos sobresalientes en la calidad de forraje en las características agronómicas y nutritivas, se realizó el agrupamiento de genotipos a través del análisis de conglomerados, reteniendo hasta cuatro grupos de interés (Tabla 7.22).

Las progenies G2, G4, G11, G12, G16, G18 y el testigo G22 (Cerro prieto)formaron el Grupo 1 (Tabla 7.22) y se ubicaron en el primer cuadrante (Figura 7.18), se caracterizaron principalmente por presentar altos valores en la altura de planta (109.8 cm), en la cobertura de suelo (90.26 %) y ser más precoces (66.33 en escala de Zadoks), así como por tener el mayor contenido de fibra detergente neutra (56.21 %).

Los testigos G21 y G24 (avena y trigo) formaron el Grupo 2 (Tabla 7.22), se encontraron en el cuadrante 3 (Figura 7.18) y se difereciaron por los mayores valores en el índice de verdor (0.84), contenido de clorofila (46.16 Spad), debido a que son más tardíos, con una etapa fenológica de 38.17 en escala de Zadoks y con una altura más baja de 82.92 cm. Sin embargo, son más digeribles (digestibilidad in vitro de 79 %) y con alto contenido de cenizas (16.19%).



Tabla 7.22 Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados en el análisis de conglomerados de las variables agronómicas y calidad nutritiva de forraje en la selección de progenies

	<b>GRUPO 1</b>	<b>GRUPO 2</b>	<b>GRUPO 3</b>	<b>GRUPO 4</b>
n	7	2	2	4
<b>ALT</b>	109.88 ±2.52	82.92 ±6.48	100.42 ±15.91	110.00 ±1.52
<b>TEMP</b>	18.69 ±0.32	17.30 ±0.00	17.77 ±0.68	18.74 ±0.49
<b>COB</b>	90.26 ±1.45	86.833 ±7.31	89.25 ±8.60	89.96 ±1.54
<b>ETAPA</b>	66.333 ±3.56	38.17 ±0.24	50.67 ±2.83	64.50 ±4.46
<b>NDVI</b>	0.76 ±0.02	0.84 ±0.01	0.79 ±0.03	0.74 ±0.02
<b>ICC</b>	46.09 ±1.21	46.16 ±1.66	45.72 ±1.09	45.07 ±1.16
<b>REND</b>	12.03 ±0.99	10.53 ±1.40	11.49 ±1.49	12.32 ±0.39
<b>PC</b>	17.34 ±0.88	18.20 ±1.20	18.58 ±1.66	16.29 ±0.63
<b>FDA</b>	36.46 ±0.64	37.08 ±0.11	35.90 ±1.27	38.51 ±0.57
<b>FDN</b>	56.21 ±1.24	54.48 ±1.31	52.90 ±0.14	55.538 ±0.55
<b>DIG</b>	69.79 ±0.91	79.00 ±2.12	75.750 ±0.35	69.13 ±1.79
<b>TND</b>	57.86 ±0.75	58.25 ±1.06	60.25 ±0.35	57.00 ±1.47
<b>ENL</b>	1.19 ±0.02	1.23 ±0.01	1.29 ±0.01	1.19 ±0.03
<b>EMG</b>	1.15 ±0.03	1.19 ±0.035	1.26 ±0.01	1.13 ±0.04
<b>ENG</b>	0.59 ±0.03	0.62 ±0.032	0.69 ±0.01	0.57 ±0.04
<b>VRF</b>	100.43 ±2.79	102.25 ±2.47	107.25 ±1.77	98.38 ±1.11
<b>LECHE</b>	1515.36 ±43.05	1516.75 ±4.59	1578.25 ±72.48	1361.50 ±33.09
<b>CZAS</b>	11.53 ±0.43	16.19 ±0.62	12.35 ±0.25	12.67 ±0.76

ALT= Altura de planta; TEMP= Temperatura de dosel; COB= Cobertura de suelo; ETAPA= Etapa fenológica; NDVI= Índice de verdor diferencial normalizado; REND= Rendimiento de forraje; PC=Proteína cruda; FDA= Fibra detergente ácida; FDN=Fibra detergente neutra; DIG=Digestibilidad; TND= Total de nutrimentos digestibles; ENL= Energía neta de lactancia; ENM= Energía neta de mantenimiento; ENG= Energía neta de ganancia; VRF= Valor relativo de forraje; CRF= Calidad relativa de forraje; LECHE= producción de leche por tonelada de materia seca.

El Grupo 3 fue formado por los testigos G23 y G25 (GABYAN95 y triticale), ubicados en el ACP en el cuarto cuadrante (Figura 7.18), que a pesar de tratarse de diferentes especies presentaron alta calidad nutritiva de forraje, con el mayor contenido de proteína cruda (18.58%), total de nutrientes digestibles (60.255), valor relativo de forraje (107.25) y mayor producción de LECHE con 1578.25 L por tonelada de materia seca de forraje (Tabla 7.22).

El Grupo 4 fue formado por las progenies G3, G10, G14 y G19 caracterizadas por presentar la mayor altura de planta (110.00 cm), mayor temperatura de dosel (18.74 °C) y mayor contenido de fibra detergente ácida (38.51 %), localizados en el segundo cuadrante en el ACP (Figura 7.19). Sin embargo, produjeron menos cantidad de leche (LECHE) con 1361.50 L por tonelada de materia seca de forraje.

En la comparación de los grupos generados, se diferenciaron principalmente por las características de la calidad nutritiva forrajera, al comparar Grupo 1 con Grupo 3, donde el Grupo 3 resultó con mayor calidad, altos contenidos de proteína cruda, total de

nutrientes digestibles y valor relativo de forraje, produciendo mayores energías netas (lactancia, mantenimiento y ganancia), al igual que mayor cantidad de leche por tonelada de materia seca de forraje. Sin embargo, el Grupo 1 es más precoz y ambos grupos producen un poco menos de rendimiento de forraje que el Grupo 4.

Al comparar el Grupo 1 con el Grupo 4, se destacó el Grupo 1 con mayor índice de verdor reafirmando su precocidad y carácter *stay green*, así como la producción de forraje con mayor calidad nutritiva en proteína cruda, energías de mantenimiento y ganancia, valor relativo de forraje y producción de leche por tonelada de materia seca de forraje.

### 7.3 Etapa 3: Genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje

#### 7.3.1 Variables de campo de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno

##### 7.3.1.1 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de las variables de campo de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno

Se encontraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) de las variables en las dos localidades evaluadas (Tabla 7.23), lo que indica que la respuesta de los genotipos fue diferente a las condiciones de las localidades, a las diferentes dosis de nitrógeno aplicadas, así como a las etapas fenológicas de los genotipos en el momento de los muestreos.

En la comparación de medias entre localidades, Navidad-Nuevo León presentó los mayores valores de temperatura de dosel y etapa fenológica de 23.9 °C y 75.3 en escala de Zadoks, respectivamente (Tabla 7.24). Sin embargo, el pronto avance de la etapa fenológica de los genotipos se debió a las altas temperaturas ambientales registradas en los meses junio a septiembre durante el desarrollo del estudio, con temperaturas promedios de 20 °C la mínima y de 32 °C la máxima (CNPT, 2019).

Tabla 7.23 Análisis de varianza, cuadrados medios y nivel de significancia de las variables de campo en la adición de nitrógeno en los genotipos sobresalientes

Fuente de variación	g/L	TEMP	ALT	NDVI	ETAPA	COB	ICC	REND
Loc	1	479.22**	49634.01**	4.09**	12201.8**	10110.01**	1362.35**	153.13**
Rep (loc)	4	11.38**	103.27**	0.003*	5.44*	36.04**	28.29**	2.36*
DM	2	2105.89**	9862.76**	1.12**	29964.21**	252.37**	428.14**	1602.51**
Loc*DM	2	105.65**	6746.76**	0.24**	572.15**	10.77*	1093.622**	362.65**
Rep*DM(Loc)	8	3.88**	48.06**	0.004**	5.20*	15.27*	9.73*	1.11NS
Geno	1	20.60**	938.45**	0.101**	1620.0**	2184.05**	0.63NS	3.51*
Loc*Geno	1	8.15**	2792.67**	0.001NS	1145.08**	510.05**	194.36**	19.49**
Geno*DM	2	7.50**	240.87**	0.008**	315.12**	69.52**	35.12**	3.87**
Loc*Geno*DM	2	0.79NS	215.76**	0.0018*	165.84**	15.52*	42.88**	1.06NS
Geno*Rep*DM(Loc)	12	1.83*	29.74*	0.002NS	2.95NS	15.09*	27.75**	4.55**
Geno*Dosis	10	24.84**	1515.08**	0.22**	337.82**	1079.95**	241.71**	6.47**
Dosis(Loc*Geno)	6	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	3.02*
Dosis*DM	15	17.71**	1223.45**	0.15**	217.97**	698.63**	212.76**	2.95*
Dosis(Loc*Geno*DM)	17	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	0.00NS	1.74NS
Media		21.5	90.9	0.63	67.02	84.06	39.19	8.08
Desv. Estándar		1.12	4.76	0.04	2.00	3.69	2.78	1.63
R <sup>2</sup>		0.97	0.98	0.98	0.99	0.94	0.91	0.95
% CV		5.2	5.23	7.06	2.99	3.39	7.09	20.14

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); NS No significativo; Rep (loc)= Error Experimental (a); Rep\*DM(Loc)= Error Experimental (b); Geno\*Rep\*DM(Loc)=Error Experimental (c); R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; % CV= Porcentaje del coeficiente de variación; TEMP=Temperatura de dosel (°C); ALT= Altura de la planta (cm); NDVI= Índice de vegetación diferencial normalizado; ETAPA= Etapa fenológica de la planta (Escala de Zadoks, 1974); COB= cobertura de la planta (%); ICC= Índice de contenido de clorofila (Spad); REND= Rendimiento de forraje (t ha<sup>-1</sup>).

Tabla 7.24 Comparación de medias entre localidades, días de muestreo y genotipos de las variables de campo en la adición de nitrógeno

Localidades	TEMP	ALT	NDVI	ETAPA	COB	ICC	REND
Zaragoza-Coahuila (Loc 2)	19.9 b	107.5a	0.78 a	58.8 b	91.6 a	41.9 a	9.0 a
Navidad-Nuevo León (Loc 3)	23.2 a	74.3 b	0.48 b	75.3 a	76.6 b	36.4 b	7.2 b
<b>Días de muestreo</b>							
75 dds	16.3c	76.6c	0.755 a	42.6 c	85.4 a	40.30 a	2.3 c
90 dds	20.4b	94.9b	0.652 b	71.9 b	85.1 a	41.13 a	9.1b
105 dds	27.9a	101.3a	0.485 c	86.5 a	81.7 b	36.15 b	12.8 a
<b>Genotipos</b>							
GABYAN95 (G23)	21.9 a	93.2 a	0.654 b	64.02b	87.5 a	39.1 a	8.0 a
CANI-95 (G11)	21.2 b	88.7 b	0.906 a	70.02 a	80.6 b	39.3 a	8.2 a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P < 0.05$ ); dds= días después de la siembra TEMP=Temperatura de dosel (°C); ALT= Altura de la planta (cm); NDVI= Índice de vegetación diferencial normalizado; ETAPA= Etapa fenológica de la planta (Escala de Zadoks, 1974); COBER= cobertura de la planta (%); ICC= Índice de contenido de clorofila (Spad); REND= Rendimiento de forraje (t ha<sup>-1</sup>).

Por su parte, Zaragoza-Coahuila presentó mejores condiciones, con temperaturas promedio mínima de 10 °C y máxima de 30 °C en los meses de febrero a abril, provocando baja temperatura de dosel (19.9 °C), con mayor altura de la planta (107.5 cm), índice de vegetación diferencial normalizado (0.78), cobertura del suelo (91.6 %),

contenido de clorofila (41.9 Spad) y mayor rendimiento de forraje con 9.0 t ha<sup>-1</sup> (Tabla 7.24).

Con respecto a los días de muestreo, se encontró que el muestreo a los 105 dds obtuvo el mayor valor de temperatura de dosel (27.9 °C), altura de la planta (101.3 cm), etapa fenológica (86.5 en escala de Zadoks), visualizando las parcelas con grano-maduro semiduro. A este día de muestreo, también se encontró el mayor rendimiento de forraje con 12.8 t ha<sup>-1</sup>. Cabe señalar que el índice de vegetación y el contenido de clorofila (NDVI e ICC) así como el cubrimiento del follaje o cobertura de suelo (COB) resultaron con los valores más altos en el primer muestreo y conforme avanzó el crecimiento de la planta y los días muestreo, estas variables disminuyeron como lo muestra la Tabla 7.24.

En la comparación de medias entre dos genotipos, el progenitor GABYAN95 (G23) presentó los mayores valores en la temperatura de dosel, altura de la planta y la cobertura de suelo con 21.9 °C, 93.2 cm, 87.5 %, respectivamente (Tabla 7.24). La progenie CANI-85 (G11) resultó con el mayor valor en la etapa fenológica (70 en escala de Zadoks) e índice de vegetación diferencial normalizado (0.906). Sin embargo, ambos genotipos (G23 y G11) resultaron estadísticamente iguales en el contenido de clorofila (39.1 y 39.3 Spad) y en el rendimiento de forraje (8.0 y 8.2 t ha<sup>-1</sup>).

#### 7.3.1.2 Temperatura de dosel, altura de planta, cobertura de suelo y rendimiento de forraje de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos

En la temperatura de dosel, ambos genotipos presentaron una respuesta similar en ambas localidades con una tendencia positiva y progresiva conforme al avance de los días de muestreo (Figura 7.19), donde el progenitor GABYA95 (G23) resultó con 5 °C más que la línea CANI-85 (G11), aún sin la adición de nitrógeno, alcanzado hasta 20, 25 y 32 °C a los 75, 90 y 105 dds, respectivamente.

Sin embargo, ambos genotipos a una dosis alta de 300 unidades de nitrógeno, a los 75 dds, presentaron la más baja temperatura de dosel (13.5°C), aumentando tan solo 3°C al siguiente muestreo (90 dds) y llegaron a 27 °C a los 105 dds (Figura 7.19).

En la altura de planta, los genotipos resultaron nuevamente con una tendencia positiva y progresiva conforme avanzaron los días del desarrollo de las plantas, en las

dosis aplicadas (Figura 7.20), llegando a una altura de la planta de 130 cm a una dosis de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>. El progenitor GABYAN95 presentó un incremento de los 90 a 105 dds, de una altura de 110 cm hasta 130 cm, mientras que CANI-85 resultó de 120 a 130 cm.

Cabe señalar que ambos genotipos evidenciaron la necesidad de nitrógeno en el desarrollo de la planta, ya que la dosis de cero unidad de nitrógeno (testigo) y los genotipos presentaron los valores más bajos en altura de la planta, incluso se encontró unefecto negativo en la línea CANI-85 al registrar alturas por debajo de 60 cm de promedio en las parcelas experimentales a los 105 dds (Figura 7.20).

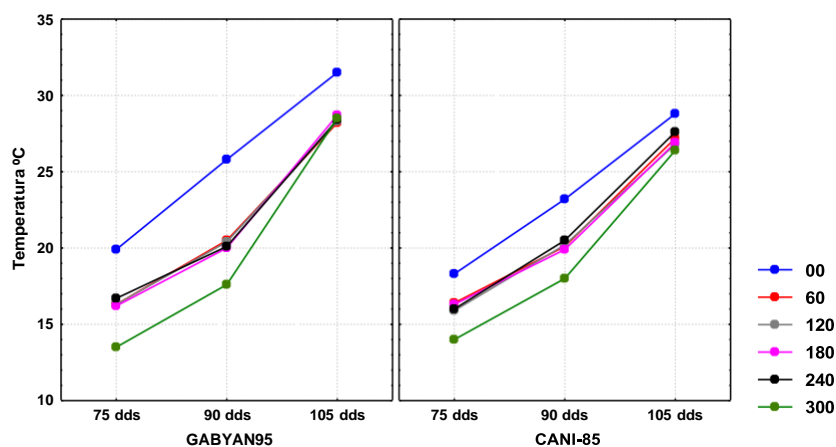


Figura 7.19 Temperatura de dosel en los genotipos por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

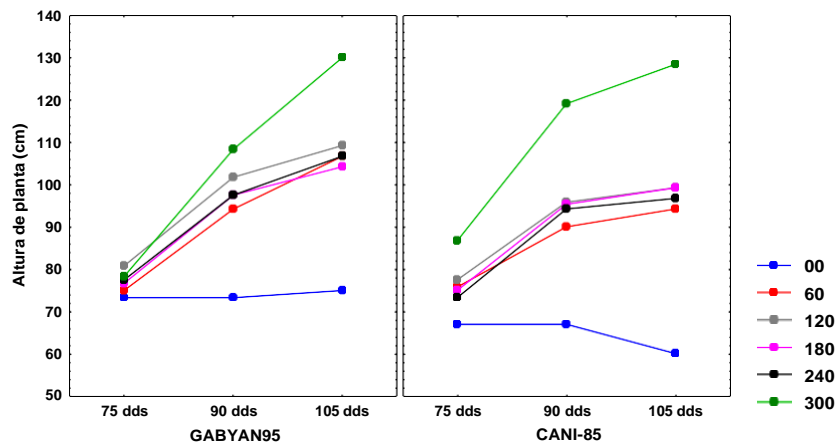


Figura 7.20 Altura de la planta en los genotipos por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

En la etapa fenológica de los genotipos, la adición de nitrógeno provocó un efecto inverso, afirmando que a mayor dosis de nitrógeno se registra un retraso en el desarrollo de la planta, pero sin detener las etapas fenológicas de la planta (Figura 7.21), siendo que ambos genotipos a la dosis de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>, resultaron con los menores valores en los tres días de muestreo, llegando a los 105 dds hasta las etapas de presencia de grano lechoso en GABYAN95 y grano masoso en CANI-85 (70 y 80 en escala de Zadoks, respectivamente). Por otro lado, los genotipos mostraron un acelerado avance de sus etapas fenológicas sin la adición de nitrógeno, alcanzando la presencia de grano maduro seco (95 en escala de Zadoks) a los 105 dds.

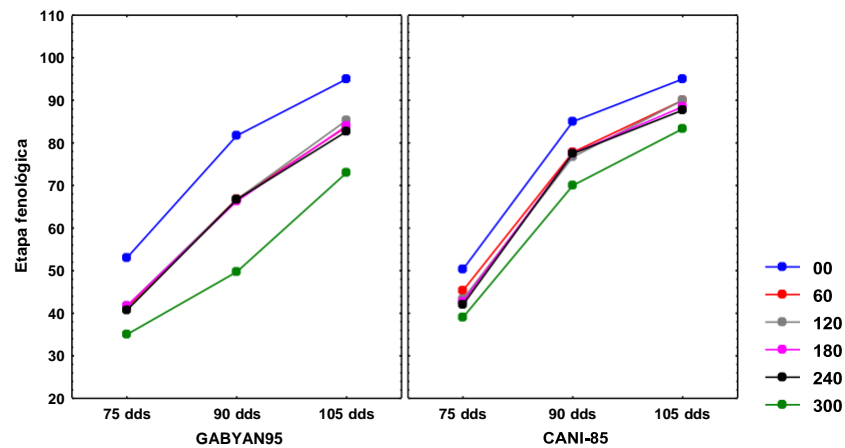


Figura 7.21 Etapa fenológica de la planta en los genotipos por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

En cuanto a la cobertura de suelo, los genotipos presentaron la mayor cobertura a una dosis de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>, con valores por arriba del 95 % (Figura 7.22), teniendo a los 75 dds GABYAN95 el mayor valor de 99% y conforme avanzaron los días de muestreo, la tendencia fue disminuyendo hasta 95%, mientras que CANI-85 resultó con 99% y llegó a disminuir hasta 92%. Cabe señalar que en ambos genotipos, la respuesta a las dosis de nitrógeno fue similar a través de los días de muestreo. Sin embargo, CANI-85 resultó con un efecto mayor en la disminución de cobertura (5 %) en las 120, 180 y 240 Kg N ha<sup>-1</sup>, mientras que en GABYAN95 fue del 3%.

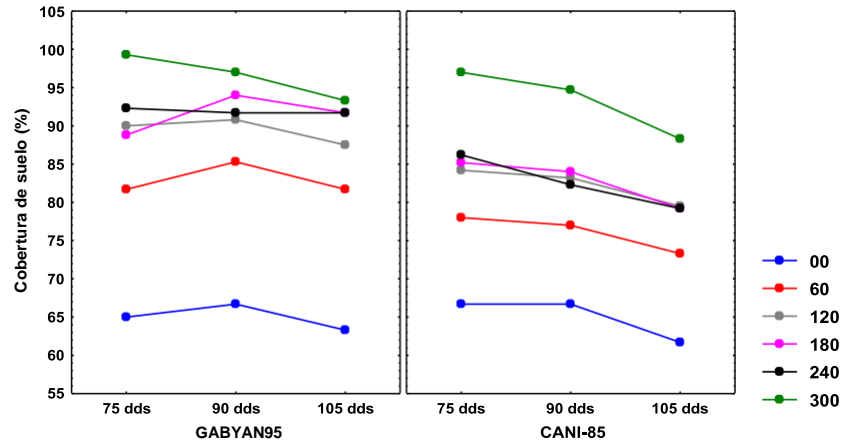


Figura 7.22 Cobertura de suelo en los genotipos por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

En el rendimiento de forraje, ambos genotipos presentaron una respuesta similar, positiva y progresiva conforme al avance de los días de muestreo, en la mayoría de las dosis de nitrógeno, a excepción de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>, donde GABYAN95 a los 75 dds produjo 5 t ha<sup>-1</sup> y a los 90 y 105 dds mantuvo un rendimiento de 6.5 t ha<sup>-1</sup> (Figura 7.23). En cambio, CANI-85 produjo 5 t ha<sup>-1</sup> en el primer (75 dds), sostuvo el rendimiento en el segundo muestreo (90 dds), y aumentó hasta 19 t ha<sup>-1</sup> en el tercer muestreo (105 dds). Así mismo, este mismo genotipo en la dosis de 240 Kg N ha<sup>-1</sup> a los 90 dds, produjo el mayor rendimiento de forraje (13 t ha<sup>-1</sup>) y aumentó hasta 19 t ha<sup>-1</sup> al siguiente muestreo (105 dds).

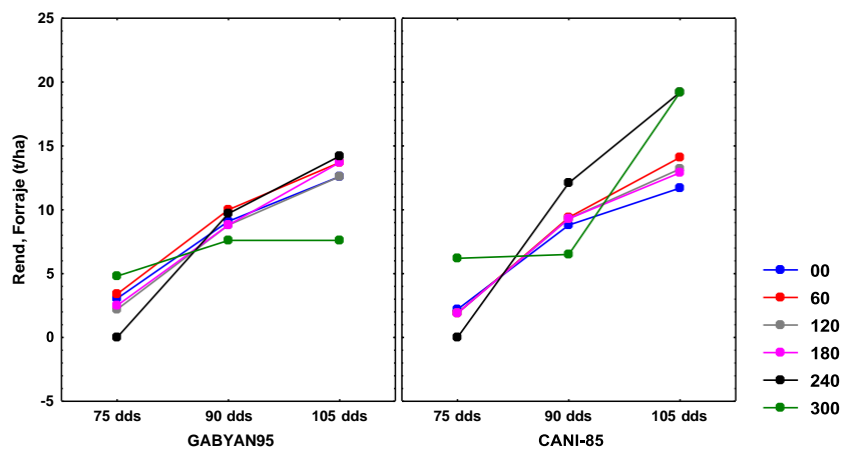
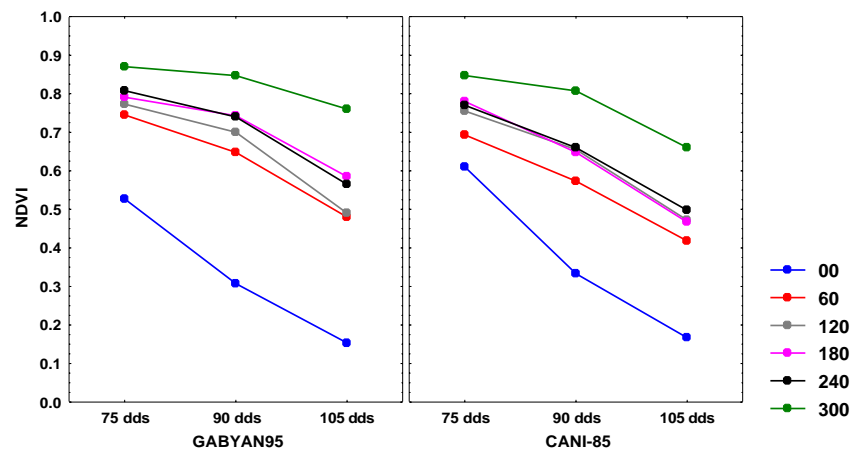


Figura 7.23 Rendimiento de forraje en los genotipos por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

### 7.3.1.3 Análisis de regresión del índice de vegetación diferencial normalizado y contenido de clorofila de genotipos por dosis de nitrógeno a través de muestreos

En el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), a partir de los 75 dds en la dosis de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>, ambos genotipos registraron el valor máximo de 0.89 y conforme avanzaron los días de muestreo y las dosis de nitrógeno fueron más bajas, disminuyendo hasta 0.18 (Figura 7.24). Tanto el progenitor GABYAN9 y la línea CANI-85 obtuvieron en la máxima dosis aplicada, los mayores valores de 0.89 (75 dds) y de 0.85 (90 dds), mientras que sin nitrógeno, GABYAN95 registró los más bajos valores a los 75 dds de 0.55, y a los 105 dds aminoró hasta 0.15, y CANI-85 a los 75 dds obtuvo 0.6 y disminuyó a 0.18.



Genotipo	Ecuación	R <sup>2</sup>
GABYAN95	$y = 0.174 + 0.019x - 0.0002x^2$	0.299
CANI-85	$y = 0.854 + 0.0004x - 0.0001x^2$	0.408

Figura 7.24 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) en genotipo por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

Para comprender mejor la respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado de los genotipos por las dosis aplicadas, se realizó un análisis de regresión a través de los días de muestreo encontrando a la línea CANI-85 con el mayor valor inicial (0.854) superior al valor inicial (0.174) del progenitor GABYAN95 (Figura 7.24).

Sin embargo, la respuesta del índice de verdor no solo pudo deberse a la adición de dosis de nitrógeno, pues el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) estuvo por debajo del 70



%, en CANI-85 de 0.408 y en GABYAN95 de 0.299 (Figura 7.24), lo que indica que existieron otros factores que intervinieron en la respuesta.

Además, la ecuación de regresión también describe las tendencias de disminución del valor de la variable, el progenitor GABYAN95 presenta más pronto un descenso con 0.0002, que la línea CANI-85 es de 0.0001 (Figura 7.24).

En cuanto a la respuesta del índice de verdor a través de las dosis de N<sub>2</sub>, la Figura 7.25 muestra la tendencia positiva y creciente del índice a la adición del fertilizante, siendo la máxima respuesta a la dosis de 300 Kg N ha<sup>-1</sup> como ya se había mencionado.

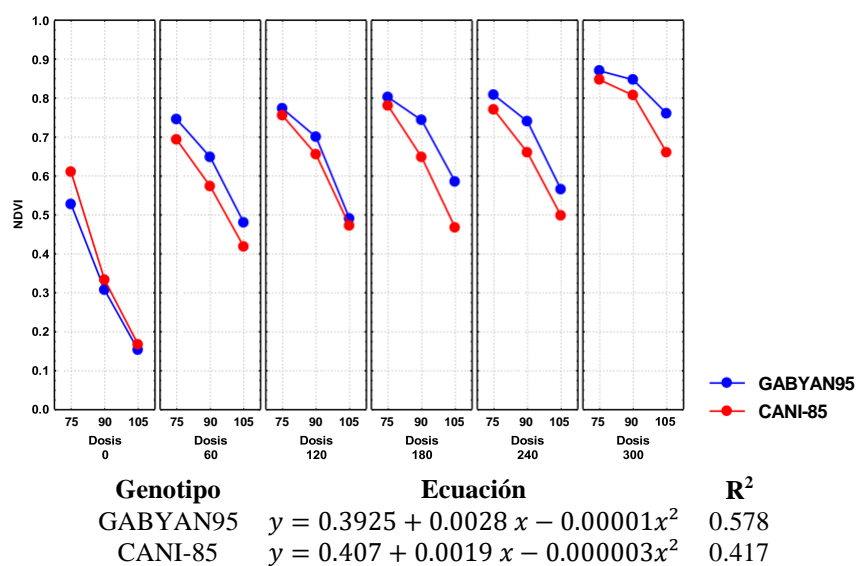


Figura 7.25 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) en genotipo por días de muestreo a través de dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>)

Las ecuaciones de regresión indicaron que el progenitor GABYAN95 tiene un valor inicial de 0.39, menor al que presenta la línea CANI-85 que es de 0.407 (Figura 7.25), confirmando que la progenie CANI-85 tiene una mayor respuesta en el índice de verdor al aumentar la dosis de nitrógeno, pero el efecto no es debido únicamente a la dosis de nitrógeno, ya que el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) resultó menor del 70 % de efectividad, GABYAN95 resultó con 0.58 y CANI-85 con 0.42, lo que reafirma la intervención de otros factores en la respuesta.

En el índice de contenido de clorofila, en una dosis mayor de nitrógeno (300 unidades de N<sub>2</sub>), CANI-85 resultó con un valor de 44 Spad a los dos primeros muestreos

y aumentó a 45 Spad al tercer muestreo (105 dds), como se puede ver en la Figura 7.26, mientras que GABYAN95 registró un valor de 42 Spad a los 75 y 90 dds y 44 Spad a los 105 dds. Pero a dosis bajas de 240 y 180 Kg N ha<sup>-1</sup>, ambos genotipos presentaron una respuesta similar en los primeros dos muestreos (75 y 90 dds), el progenitor GABYAN95 resultó con 44 Spad y la línea CANI-85 con 43 Spad, y al tercer muestreo (105 dds) disminuyeron a 42 y 40 Spad, respectivamente (Figura 7.26).

Además, a dosis aún más bajas (00 y 60 Kg N ha<sup>-1</sup>), los dos genotipos resultaron afectados en la acumulación de clorofila presentando valores por debajo de 39 Spad y decayendo drásticamente a los siguientes muestreos llegando por debajo de 15 Spad en GABYAN95 y 25 Spad en CANI-85 (Figura 7.26).

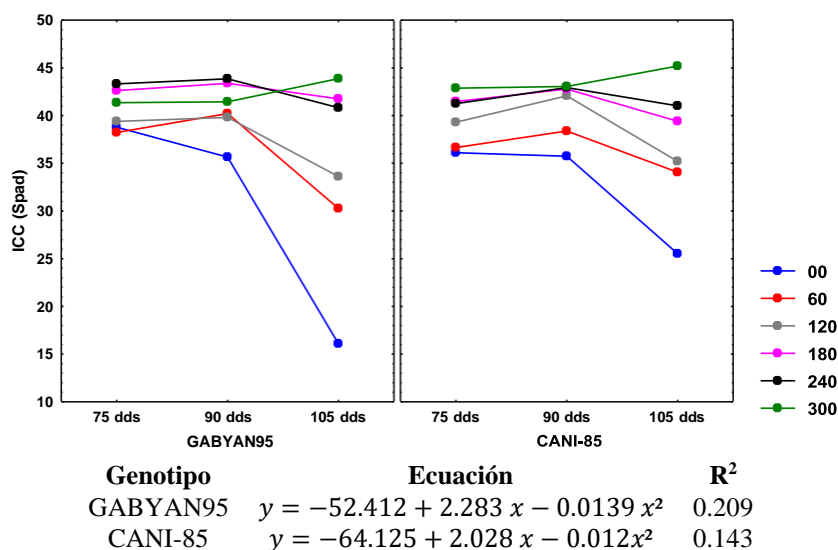


Figura 7.26 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) del índice del contenido de clorofila (ICC) en genotipo por adición de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo

El análisis de regresión para el índice de contenido de clorofila determinó que la línea CANI-85 obtuvo la mayor explicación de respuesta con un valor de 64.12 Spad a los 75 dds, seguida por el progenitor GABYAN95 con 52.41 Spad, que resultó con el mayor descenso del contenido de clorofila conforme avanzan los días de desarrollo de la planta siendo de 0.0139, mientras que la línea tiende a presentar una disminución de 0.012, como señalan las ecuaciones de regresión en la Figura 7.26.

Así mismo, al analizar la respuesta de los genotipos en el contenido de clorofila a través de las dosis de nitrógeno, se identificó que conforme aumenta la dosis de

nitrógeno, aumenta el contenido de clorofila en ambos genotipos (Figura 7.27), confirmando esta tendencia en las ecuaciones de regresión, donde la línea CANI-85 tuvo un valor inicial de 32.67 Spad, superando al progenitor GABYAN que resultó con 30.25 Spad (Figura 7.27). Pero, estas tendencia no puede deberse únicamente a la adición de nitrógeno, ya que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) resultó bajo en ambos genotipos, GABYAN95 con 0.47 y CANI-85 con 0.68, donde nuevamente pueda deberse a otros factores.

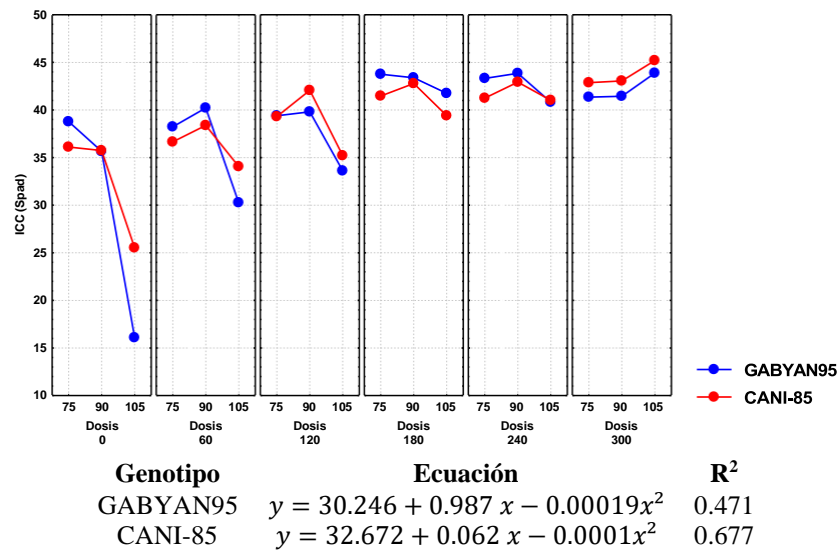


Figura 7.27 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del índice del contenido de clorofila (ICC) en genotipo por días de muestreo a través de dosis de  $N_2$  ( $Kg N ha^{-1}$ )

#### 7.3.1.4 Superficie de respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado y contenido de clorofila de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos

Dados los comportamientos de los genotipos descritos y confirmados por los análisis de regresión, se utilizó la metodología de superficie de respuesta en los factores dosis de nitrógeno y de días de muestreo para identificar las dosis máximas y mínimas, y en mayor o menor número de días después de la siembra para mantener u obtener la mayor respuesta de los índices de vegetación (NDVI) y contenido de clorofila (ICC) en cada genotipo, estableciendo una acentuación en la característica de *stay green* de estas cebadas forrajeras.

La superficie de respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado encauzó una ecuación de respuesta para cada genotipo (Figura 7.28), indicando el aumento del índice de verdor conforme aumenta la dosis de nitrógeno iniciando en etapas fenológicas tempranas como a los 70-75 dds, llegando a un valor máximo de verdor, manteniéndose en distinto día después de la siembra y posteriormente disminuir, evento que se da independientemente de la dosis. En el progenitor GABYAN95 se establece que a partir de 150 Kg N ha<sup>-1</sup>, se tendrán los valores de 0.786 hacia arriba en los primeros 80 dds; pero, si se deseará mantener el *stay green* del follaje hasta los 90 dds, se aplicaría una dosis de 200 Kg N ha<sup>-1</sup>, entre más número de días se aplicará mayor dosis, pero solo podrá permanecer hasta los 100 dds (Figura 7.28).

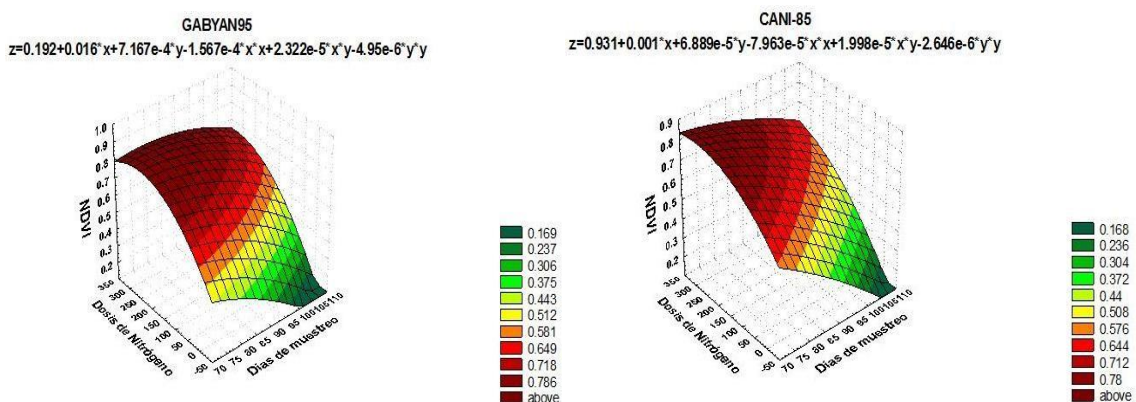


Figura 7.28 Superficie de respuesta del índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) de genotipos sobresalientes a través de dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) y días de muestreo

En el caso de la línea CANI-85, se establece que a partir de 200 Kg N ha<sup>-1</sup>, se obtendrán índices de verdor de 0.78 hacia arriba hasta los 75 dds, y si se deseará mantener a los 90 dds, se aplicaría una dosis de 250 Kg N ha<sup>-1</sup>, confirmando lo descrito en el análisis de regresión antes descrito.

Con respecto a la superficie de respuesta del índice de contenido de clorofila, ambos genotipos resultaron con diferentes patrones (Figura 7.29), el progenitor GABYAN95 indicó un máximo valor de clorofila de 42.09 Spad, a partir de la dosis de 100 Kg N ha<sup>-1</sup> a los 90 dds y puede aumentar el contenido al aplicar mayor dosis y mantenerse hasta los 110 dds. Por su parte, la línea CANI-85 indicó que para obtener máximos contenidos de clorofila de 43.79 Spad, puede ser a partir de los 80 dds con dosis arriba de 300 Kg N ha<sup>-1</sup>.

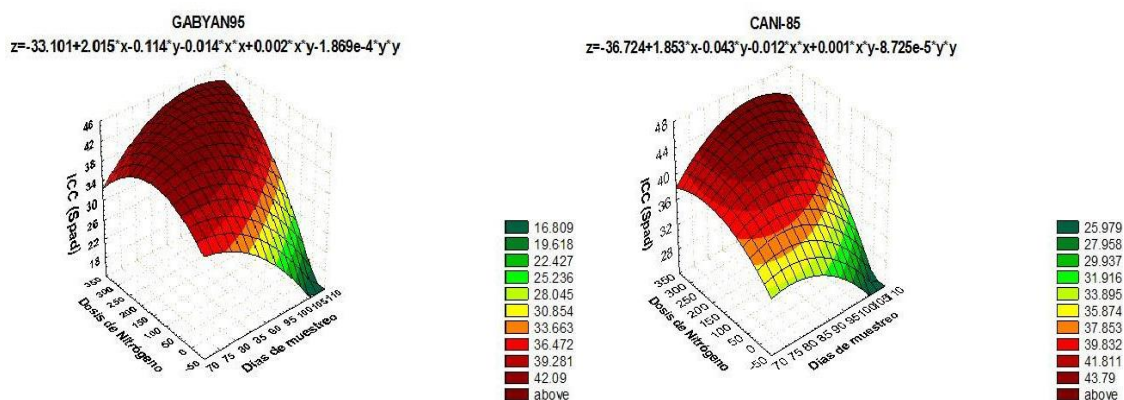


Figura 7.29 Superficie de respuesta del índice de contenido de clorofila (ICC) de los genotipos sobresalientes a través de dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) y días de muestreo

Pero, si se requiere mayor acumulación de clorofila en etapas fenológicas más tardías, como a partir de 80 dds, que es cuando existe mayor actividad para acumular proteína en el forraje, se aplicaría una dosis a partir de 200 Kg N ha<sup>-1</sup> (Figura 7.29).

En forma general, GABYAN95 es más sensible a la adición de nitrógeno que su progenie, respondiendo desde etapas tempranas en los contenidos de clorofila, mientras que CANI-85 lo hace en etapas más tardías que su progenitora, pero con mayores contenidos.

### 7.3.2 Rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno

#### 7.3.2.1 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias de rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno

En el análisis de varianza del rendimiento (RENDS) y calidad física de semillas (peso volumétrico (PV) y peso del mil semillas (PMS)), se encontraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en las localidades, genotipos y la interacción genotipo por localidad, alcanzando una media de 2.6 t ha<sup>-1</sup> (RENDS), 52.9 Kg HI<sup>-1</sup> (PV) y 39.3 g (PMS) (Tabla 7.25). Asimismo, en el contenido de humedad se tuvo diferencia

altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) entre los genotipos y significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las localidades, y en genotipo por localidad, con una media de 11.2 °C, (Tabla 7.25).

Tabla 7.25 Análisis de varianza, cuadros medios y nivel de significancia del rendimiento y calidad física de semillas en la adición de nitrógeno en genotipos sobresalientes

Fuentes de variación	gL	RENDS	CH	PV	PMS
Localidad	1	6.247**	0.083*	353.710**	22.523**
Rep(Loc)	4	0.475*	0.046NS	2.862NS	9.092**
Genotipo	1	14.073**	5.880**	34.07**	515.747**
Geno*Loc	1	3.935**	0.068*	325.00**	185.024**
Geno*Rep(Loc)	4	0.111NS	0.064NS	4.429NS	5.998*
Geno (Dosis)	10	0.584*	0.124NS	3.645NS	11.865**
Dosis(Loc*geno)	6	0.428*	0.178NS	5.252NS	11.425**
Media		2.60	11.2	52.9	39.3
Desv. Est.		0.66	0.442	2.635	1.83
R <sup>2</sup>		0.76	0.59	4.97	0.91
% C.V.		25.4	3.93	0.81	4.65

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); NS No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Coeficiente de variación; RENDS= Rendimiento de semilla (t ha<sup>-1</sup>); CH= Contenido de humedad (%); PV=Peso volumétrico (Kg HI<sup>-1</sup>); PMS=peso de mil semillas (g).

En la calidad fisiológica de la semilla, en las plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud media de plúmula (LMP) y radícula (LMR), se encontraron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) en las localidades, en los genotipos y en la interacción genotipo por dosis, con un promedio de 93.1 % en PN, 1.2 % en PA, 5.7 % en SSG, 12.2 y 14.4 cm pl<sup>-1</sup> en LMP y LMR, respectivamente, así como en el peso seco entre los genotipos con un promedio de 18.5 mg pl<sup>-1</sup> (Tabla 7.26). Con la excepción en PA, se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en las localidades y en la interacción genotipo por dosis, lo que indica que uno de los genotipos en una de las localidades y dosis de nitrógeno presentó una mejor respuesta en la calidad fisiológica de semilla producida.

La prueba de comparación de medias entre localidades indicó que Zaragoza-Coahuila obtuvo los mayores valores de rendimiento de semillas con 2.9 t ha<sup>-1</sup> y de peso volumétrico con 55.6 Kg HI<sup>-1</sup> (Tabla 7.27), así como el mayor vigor de semilla en longitud media de plúmula con 12.6 cm pl<sup>-1</sup>. Sin embargo, en Navidad-Nuevo León se produjo semilla con mayor peso (peso de mil semillas) de 40.1 g, germinación (plántulas normales) de 99.0%, menor plántulas anormales y semillas sin germinar de 0.5% cada uno, además de mayor vigor en la longitud media de plúmula con 14.7 cm pl<sup>-1</sup>.

Tabla 7.26 Análisis de varianza, cuadros medios y nivel de significancia de la calidad fisiológica de semillas en la adición de nitrógeno en genotipos sobresalientes

Fuente de variación	gL	PN	PA	SSG	LMP	LMR	PS
Localidad	1	936.33**	21.33*	675.00**	3.018**	4.569**	0.014 <sup>NS</sup>
Rep(Loc)	4	79.466**	6.93*	107.467**	0.276**	0.327 <sup>NS</sup>	2.54*
Genotipo	1	173.28**	17.28**	69.120**	0.374*	0.803*	84.546**
Geno*Loc	1	16.333*	0.000 <sup>NS</sup>	16.333*	0.963*	0.48*	24.984**
Geno*Rep(Loc)	4	13.866 <sup>NS</sup>	3.733*	8.267 <sup>NS</sup>	0.349**	0.327 <sup>NS</sup>	0.907 <sup>NS</sup>
Geno(Dosis)	10	131.48**	6.186*	111.747**	0.596**	0.400 <sup>NS</sup>	2.662*
Dosis(Loc*geno)	6	21.222*	3.555 <sup>NS</sup>	16.778 <sup>NS</sup>	0.511**	0.999**	5.193**
Media		93.1	1.2	5.7	12.2	14.4	18.5
Desv. Est.		4.62	2.0	5.05	0.34	0.68	1.36
R <sup>2</sup>		0.85	0.57	0.81	0.84	0.58	0.76
% C.V.		4.96	166.67	89.1	2.78	4.71	7.33

\*\* Altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ); \* Significativo ( $p \leq 0.05$ ); <sup>NS</sup> No significativo; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación; CV= Coeficiente de variación; PN=Plántulas Normales (%); PA= Plántulas Anormales (%); SSG= Semillas sin Germinar (%); LMP=Longitud Media de Plúmula (cm pl<sup>-1</sup>); LMR= Longitud Media de Radícula (cm pl<sup>-1</sup>); PS=Peso Seco de plántula (mg pl<sup>-1</sup>).

Tabla 7.27 Comparación de medias entre localidades y genotipos de rendimiento y calidad de semillas en la adición de nitrógeno

Localidades	RENDS	CH	PV	PMS	PN	PA	SSG	LMP	LMR	PS
Loc 2	2.9a	11.3a	55.6a	38.5b	87.3b	1.9a	10.8a	12.6a	14.1b	18.69a
Loc 3	2.2b	11.2a	50.3b	40.1a	99.0a	0.5b	0.5b	11.9b	14.7a	18.39a
Genotipos										
GABYAN95	2.1b	11.6a	52.2b	36.2b	94.5a	0.7b	4.8a	12.3a	14.5a	17.32b
CANI-85	3.12a	10.9b	53.7a	42.3a	91.6b	1.9a	6.5a	12.2a	14.3a	19.77a

\*Letras diferentes indican diferencias significativas a nivel ( $P < 0.05$ ); Loc 2= Zaragoza-Coahuila; Loc 3= Navidad-Nuevo León; RENDS= Rendimiento de semilla (t ha<sup>-1</sup>); CH= Contenido de humedad (%); PV=Peso volumétrico (Kg Hl<sup>-1</sup>); PMS=peso de mil semillas (g); PN=Plántulas Normales (%); PA= plántulas Anormales (%); SSG= Semillas sin Germinar (%); LMP=Longitud Media de Plúmula (cm pl<sup>-1</sup>); LMR= Longitud Media de Radícula (cm pl<sup>-1</sup>); PS=Peso Seco de plántula (mg pl<sup>-1</sup>).

Entre los genotipos, la línea CANI-85 resultó con el mayor rendimiento de semillas con 3.12 t ha<sup>-1</sup> y alta calidad física de semilla, con el menor valor de contenido de humedad (10.9 %), mayor peso volumétrico y peso de mil semillas con 53.7 Kg Hl<sup>-1</sup> y 42.3 g, respectivamente (Tabla 7.27). Sin embargo, ambos genotipos presentaron alta calidad fisiológica, con germinaciones por arriba del 91 % en plántulas normales, y un vigor estadísticamente igual en la longitud de plúmula y radícula, lo cual indica que la adición de nitrógeno favorece en la producción de semilla.

### 7.3.2.2 Rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por dosis de nitrógeno a través de muestreos

En el rendimiento de semillas, la línea CANI-85 presentó el mayor rendimiento en las condiciones de Zaragoza-Coahuila en las dosis de N<sub>2</sub> aplicadas, produciendo de 4.0 a 4.5 t ha<sup>-1</sup> a las dosis de 60, 120 y 300 Kg N ha<sup>-1</sup> (Figura 7.30), y a pesar de que las condiciones de Navidad-Nuevo León no fueron tan favorables, la progenie superó al progenitor al producir mayor rendimiento por arriba de 2.5 t ha<sup>-1</sup>, en las dosis de 180 y 240 Kg N ha<sup>-1</sup>.

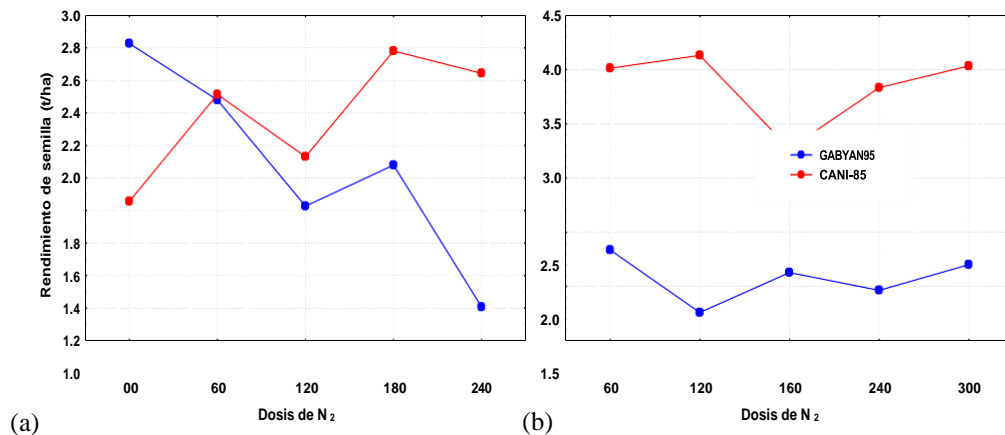


Figura 7.30 Rendimiento de semillas en genotipo por dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila

Sin adición de nitrógeno (00 Kg N ha<sup>-1</sup>), el progenitor de cebada cv. GABYAN85 en la localidad Navidad-Nuevo León obtuvo el mayor rendimiento de semillas con 2.8 t ha<sup>-1</sup> (Figura 7.30), a diferencia de CANI-85, que produjo 1.8 t ha<sup>-1</sup>, pero al aumentar la dosis a 60 Kg N ha<sup>-1</sup>, ambos genotipos resultaron con un rendimiento similar (2.5 t ha<sup>-1</sup>), y a la dosis de 120 Kg N ha<sup>-1</sup> disminuyeron, GABYAN95 a 1.8 t ha<sup>-1</sup> y CANI-85 a 2.2 t ha<sup>-1</sup>, siendo mayormente afecto el progenitor GABYAN95.

En la calidad física de semilla en el peso de mil semillas, en Zaragoza-Coahuila, la línea CANI-85 a una dosis de 60 Kg N ha<sup>-1</sup> obtuvo el mayor valor (46.5 g), seguida de las dosis 240 y 300 Kg N ha<sup>-1</sup> con 45 g, mientras que a dosis de 120 y 180 Kg N ha<sup>-1</sup> los valores del peso disminuyeron hasta 42 g (Figura 7.31). En cambio, el progenitor



GABYAN95, en la misma localidad, resultó con valores por debajo de 34 g en las dosis de nitrógeno aplicadas.

En la localidad Navidad-Nuevo León, la línea CANI-85 presentó el mayor peso de semillas con 43.9 g a una dosis de 180 Kg N ha<sup>-1</sup>, y disminuyó a la siguiente dosis de 240 Kg N ha<sup>-1</sup> con 42.9 g, mientras que el progenitor GABYAN95 presentó un peso de 42.9 g sin adición de nitrógeno (00 Kg N ha<sup>-1</sup>), pero al aumentar a 60 y 120 Kg N ha<sup>-1</sup>, declinó el peso hasta por debajo de 37 g. No obstante, a la adición de altas dosis (180 y 240 Kg N ha<sup>-1</sup>) incrementó el peso hasta 40 g (Figura 7.31).

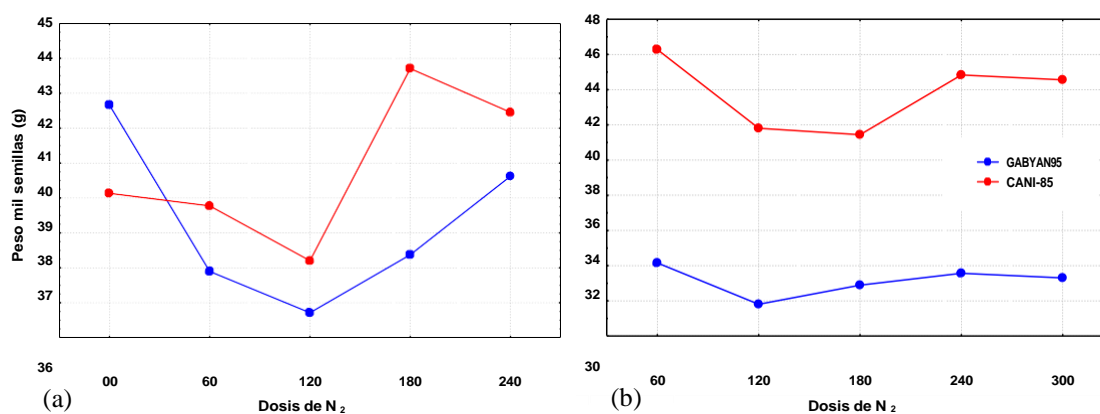


Figura 7.31 Peso de mil semillas en genotipo por dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila

En la localidad Navidad-Nuevo León se encontró una mejor condición en ambos genotipos con la adición de nitrógeno para producir semillas de alta capacidad de germinación con mayores valores de plántulas normales (100 %) y nulo porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar (Figura 7.32).

En las condiciones de Zaragoza-Coahuila, los genotipos resultaron afectados negativamente en la germinación, al aumentar las dosis de nitrógeno, entre otros factores, ya que a una dosis de 60 Kg N ha<sup>-1</sup>, tuvieron los mayores valores de plántulas normales (GABYAN95 de 95% y en CANI-85 de 90%), y a la dosis más alta (300 Kg N ha<sup>-1</sup>) resultaron con 80 % en GABYAN95 y 78 % en CANI-85 (Figura 7.32).

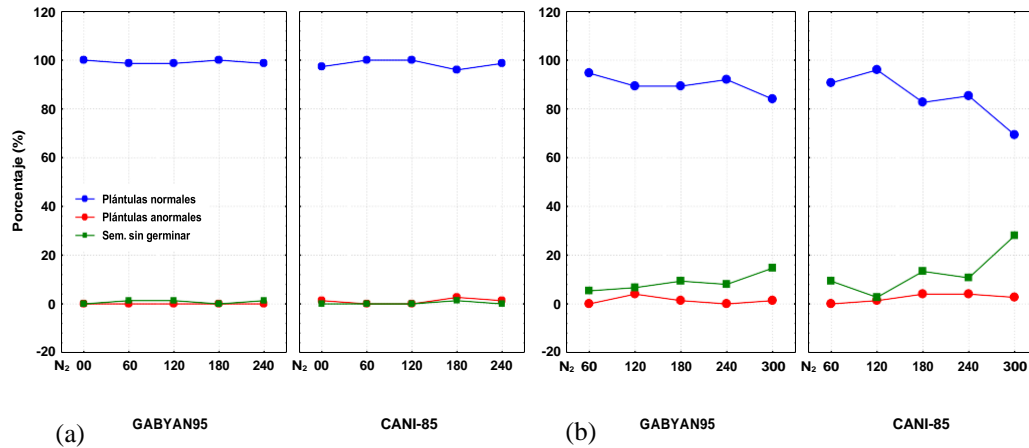


Figura 7.32 Capacidad de germinación (plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar) en genotipo por dosis de  $N_2$  ( $Kg\ N\ ha^{-1}$ ) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila

Asimismo, la adición de nitrógeno afectó al vigor de la semilla de los genotipos de manera diferente en las localidades, en Navidad-Nuevo León, ambos genotipos resultaron con la mayor longitud media de radícula ( $15.5\ cm$ ), a una dosis de  $120\ Kg\ N\ ha^{-1}$ , mientras que en Zaragoza-Coahuila, el progenitor GABYAN95 obtuvo el máximo valor a  $240\ Kg\ N\ ha^{-1}$  ( $15.0\ cm\ pl^{-1}$ ) declinando a una dosis mayor ( $300\ Kg\ N\ ha^{-1}$  con  $14\ cm\ pl^{-1}$ ), y en la línea CANI-85 a la dosis de  $180\ Kg\ N\ ha^{-1}$  resultó con mayor longitud ( $14.5\ cm\ pl^{-1}$ ), pero en las dosis posteriores declinó hasta  $13.4\ cm\ pl^{-1}$ , como muestra en la Figura 7.33.

En la longitud media de plúmula, en Navidad-Nuevo León, GABYAN95 registró el mayor valor ( $12.5\ cm\ pl^{-1}$ ) a las dosis de  $60$  y  $240\ Kg\ N\ ha^{-1}$ , mientras que la línea CANI-85, a medida que se aplicó mayor dosis, incrementó la longitud, iniciando a  $00\ Kg\ N\ ha^{-1}$  con  $11\ cm\ pl^{-1}$ , y a  $240\ Kg\ N\ ha^{-1}$  con  $12.5\ cm\ pl^{-1}$  (Figura 7.33).

En la localidad Zaragoza-Coahuila, GABYAN95 resultó una respuesta similar en las primeras tres dosis ( $60, 120$  y  $180\ Kg\ N\ ha^{-1}$ ) de  $12.4\ cm\ pl^{-1}$ , a  $240\ Kg\ N\ ha^{-1}$  incremento a  $12.7\ cm\ pl^{-1}$ , pero a  $300\ Kg\ N\ ha^{-1}$ , nuevamente disminuyó a  $12.4\ cm\ pl^{-1}$  (Figura 7.33). En cambio, la línea CANI-85 decreció el valor de la longitud media de plúmula conforme al aumento de nitrógeno, presentando el mayor valor ( $13\ cm\ pl^{-1}$ ) a  $60\ Kg\ N\ ha^{-1}$  y llegando a un valor de  $12.0\ cm\ pl^{-1}$  a  $300\ Kg\ N\ ha^{-1}$ .

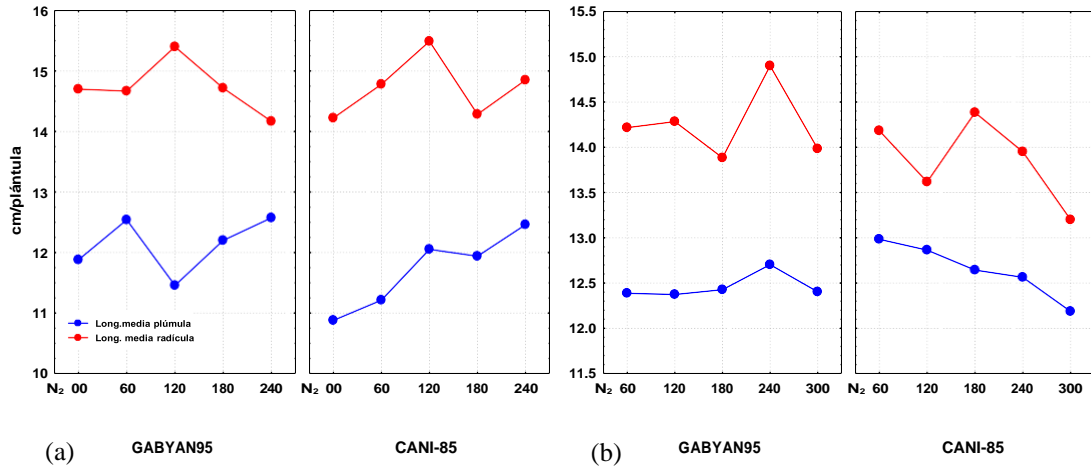


Figura 7.33 Vigor de semilla en longitud media de plúmula en genotipo por dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila

En cuanto al peso seco de plántula, existió una respuesta positiva en localidad Navidad-Nuevo León, en ambos genotipos conforme al aumento de de la dosis de nitrógeno, donde la línea CANI-85 obtuvo el mayor valor (21.9 mg pl<sup>-1</sup>) a 180 Kg N ha<sup>-1</sup>, mientras que GABYAN95 en esa dosis, obtuvo el menor valor (17 mg pl<sup>-1</sup>), como se puede ver en la Figura 7.34.

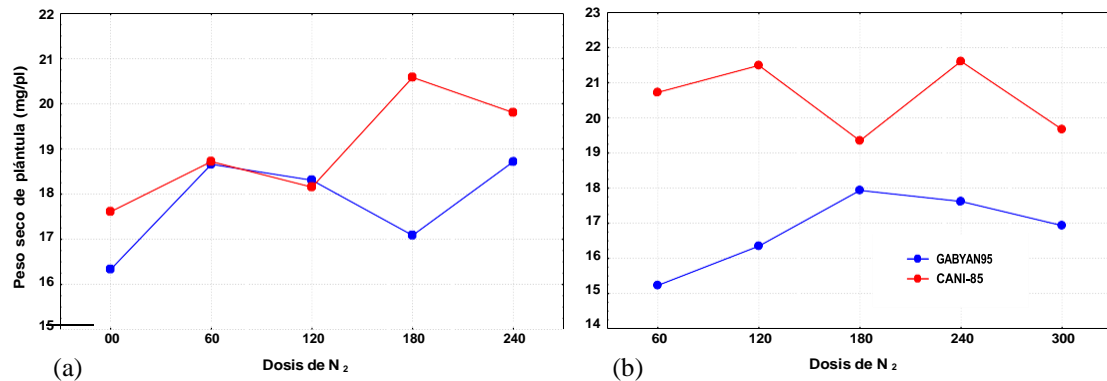


Figura 7.34 Vigor de semilla en peso seco de plántula en genotipo por dosis de N<sub>2</sub> (Kg N ha<sup>-1</sup>) a través de los días de muestreo en: (a) Navidad-Nuevo León y (b) Zaragoza-Coahuila

En Zaragoza-Coahuila, destacó CANI-85 a las primeras dosis (60 y 120 Kg N ha<sup>-1</sup>), con 21 y 22.5 mg pl<sup>-1</sup>, respectivamente, así como a 240 Kg N ha<sup>-1</sup> con 19.9 21.9 mg pl<sup>-1</sup>, mientras que el progenitor GABYAN95 presentó el mayor valor (18.0 mg pl<sup>-1</sup>) a la dosis de 180 Kg N ha<sup>-1</sup>.

### 7.3.2.3 Análisis de regresión del rendimiento y calidad de semillas de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno a través de localidades

Dentro del sistema de producción de semillas, existen algunos parámetros importantes para calificar la semilla de alta calidad en la toma de decisiones sobre la selección de variedades y localidades, para ello, se consideraron las respuestas cuadráticas del análisis de regresión de los parámetros de: rendimiento de semillas, peso de mil semillas, plántulas normales, longitud media de radícula y peso seco de plántulas explorando a cada genotipo por localidad.

El progenitor GABYAN95 tuvo una mayor explicación de la respuesta cuadrática de rendimiento de semillas en Navidad-Nuevo León con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.84$  (Tabla 7.28), lo que indica que el rendimiento depende muy probablemente de la dosis de nitrógeno. Zaragoza-Coahuila presentó un coeficiente de determinación de  $R^2=0.48$ , lo que es incierto que el rendimiento dependa exclusivamente de la adición de nitrógeno, ya que posiblemente existieron otros factores que intervinieron en el rendimiento de la semilla.

En el peso de mil semillas, GABYAN95 registró una mayor explicación de respuesta de tipo cuadrática en Navidad-Nuevo León con un coeficiente de determinación  $R^2= 0.96$ , afirmando la favorable adición de nitrógeno en el genotipo (Tabla 7.28). En Zaragoza-Coahuila, se tuvo un  $R^2= 0.32$ , lo que indica que otros factores intervinieron en la formación y acumulación de peso en el grano y no solamente de la adición de nitrógeno. Así mismo, el parámetro de plántulas normales, en ambas localidades se tuvo una explicación de respuesta  $R^2= 0.142$  en Navidad-Nuevo León y  $R^2=0.56$  en Zaragoza-Coahuila, denotando la posible intervención de otros factores climáticos o de riego además de las dosis de nitrógeno (Tabla 7.28).

Tabla 7.28 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de rendimiento y calidad de semillas en GABYAN95 a través localidades

Localidad	Variable	Ecuación de regresión	$R^2$
Navidad-Nuevo León	RENDS	$y = 3.06 - 0.27x - 0.014x^2$	0.84
	CH	$y = 11.5 - 0.059x + 0.21x^2$	0.26
	PV	$y = 50.6 + 1.017x - 0.143x^2$	0.26
	PMS	$y = 48.82 - 7.61x + 1.207x^2$	0.96
	PN	$y = 100.26 - 0.68x + 0.093x^2$	0.14
	SSG	$y = -0.26 + 0.68x - 0.09x^2$	0.14
	LMP	$y = 12.46 - 0.447x + 0.093x^2$	0.29
	LMR	$y = 13.84 + 0.928x - 0.171x^2$	0.70
	PS	$y = 16.66 + 1.34x - 0.17x^2$	0.31
Zaragoza-Coahuila	RENDS	$y = 3.08 - 0.57x + 0.071x^2$	0.48
	CH	$y = 10.82 + 0.383x - 0.043x^2$	0.39
	PV	$y = 54.72 - 1.317x + 0.157x^2$	0.06
	PMS	$y = 36.96 - 2.171x + 0.271x^2$	0.32
	PN	$y = 94.84 - 0.441x - 0.178x^2$	0.56
	PA	$y = -2.12 + 2.145x - 0.285x^2$	0.13
	SSG	$y = 7.46 - 1.819x + 0.478x^2$	0.83
	LMP	$y = 12.04 + 0.20x - 0.0214x^2$	0.21
	LMR	$y = 13.58 + 0.363x - 0.043x^2$	0.05
	PS	$y = 9.36 + 3.66x - 0.4x^2$	0.95

RENDS= Rendimiento de semilla; CH= Contenido de humedad; PV= Peso volumétrico; PMS= Peso de mil semillas; PN= Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LMP= Longitud media de plúmula; LMR= Longitud media de radícula; PS= Peso seco de plántula.

Otros parámetros de interés es la longitud media de radícula y el peso seco de plántula. Para la longitud media de radícula, GABYAN95 presentó un  $R^2$  de 0.70 resultó con la mayor explicación de la respuesta de tipo cuadrática, en Navidad-Nuevo León, y de 0.049 en Zaragoza-Coahuila (Tabla 7.28). Sin embargo, en el peso seco de plántula, la respuesta tipo cuadrática resultó contraria, con  $R^2= 0.31$  en Navidad-Nuevo León y  $R^2= 0.95$  en Zaragoza-Coahuila, indicando que la acumulación del peso seco la planta depende de la adición de nitrógeno en esta última localidad.

El análisis de regresión para la línea CANI-85 indicó que las respuestas de rendimiento de semillas y peso de mil semillas fueron poco confiables a la teoría de que el rendimiento y el peso de semilla se debieran a la adición de nitrógeno, por los valores bajos de los coeficientes de determinación. En el rendimiento, Navidad-Nuevo León tuvo un  $R^2= 0.56$  y en Zaragoza-Coahuila un  $R^2=0.41$ , mientras que en el peso de mil semillas en Navidad fue un  $R^2= 0.49$  y en Zaragoza un  $R^2= 0.62$  (Tabla 7.29), lo que muestra que en la línea CANI-85, probablemente otros factores estuvieron involucrados en el desarrollo de las semillas y por ende, en el rendimiento durante la producción en ambas localidades.

Tabla 7.29 Respuesta cuadrática y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de rendimiento y calidad de semillas en la línea CANI-85 a través de localidades

Localidad	Variable	Ecuación de regresión	$R^2$
Navidad-Nuevo León	RENDS	$y = 1.62 + 0.38 x - 0.035 x^2$	0.56
	CH	$y = 11.34 - 0.487 x + 0.093 x^2$	0.45
	PV	$y = 51.52 - 3.32 x + 0.636 x^2$	0.85
	PMS	$y = 40.9 - 1.40 x + 0.379 x^2$	0.49
	PN	$y = 96.76 + 1.59 x - 0.286 x^2$	0.11
	PA	$y = 1.5 - 0.80 x + 0.179 x^2$	0.23
	SSG	$y = -0.78 + 0.69 x - 0.093 x^2$	0.21
	LMP	$y = 10.3 + 0.604 x - 0.035 x^2$	0.89
	LMR	$y = 13.52 + 0.90 x - 0.136 x^2$	0.31
	PS	$y = 16.64 + 1.015 x - 0.64 x^2$	0.68
	Zaragoza-Coahuila.	RENDS	$y = 5.46 - 0.887 x + 0.107 x^2$
CH		$y = 10.98 + 0.07 x - 0.014 x^2$	0.67
PV		$y = 58.96 - 0.094 x + 0.142 x^2$	0.001
PMS		$y = 56.34 - 7.125 x + 0.886 x^2$	0.62
PN		$y = 79.5 + 9.907 x - 1.91 x^2$	0.83
PA		$y = -8.74 + 5.324 x - 0.564 x^2$	0.90
SSG		$y = 29.24 - 1523 x + 2.47 x^2$	0.83
LMP		$y = 13.12 - 0.0186 x - 0.021 x^2$	0.94
LMR		$y = 12.92 + 0.754 x - 0.114 x^2$	0.47
PS		$y = 20.42 + 0.324 x - 0.064 x^2$	0.09

RENDS= Rendimiento de semilla; CH= Contenido de humedad; PV= Peso volumétrico; PMS= Peso de mil semillas; PN= Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LMP= Longitud media de plúmula; LMR= Longitud media de radícula; PS= Peso seco de plántula.

El porcentaje de plántulas normales en CANI-85 resultó una mayor explicación de la respuesta tipo cuadrática en Zaragoza-Coahuila con un  $R^2 = 0.83$  (Tabla 7.29), teniendo la seguridad de que la germinación de plántulas normales es debida a la adición de dosis de nitrógeno; mientras en Navidad-Nuevo León la explicación fue poco confiable con un  $R^2 = 0.11$ .

En ambas localidades, la longitud media de radícula y peso seco de plántulas de CANI-85, registraron coeficientes de determinación menores al 50, indicando poca explicación en las respuestas (Tabla 7.29), y probablemente poca influencia en la adición de nitrógeno en el vigor de la semilla.

Dadas las ecuaciones de regresión tipo cuadráticas de rendimiento y calidad de semillas, se calcularon los valores máximos y mínimos de las dosis de nitrógeno mediante la segunda derivada, sobre todo en los parámetros con un coeficiente de determinación por arriba de 70%, con el fin de establecer de manera teórica, la mejor dosis de nitrógeno a la que se puede producir mayor rendimiento y calidad de semilla.

El progenitor GABYAN95 en las condiciones de Navidad-Nuevo León obtuvo en la segunda derivada de rendimiento de semillas y longitud media de radícula, un nivel

máximo en la dosis de nitrógeno de 9.64 y 2.71 respectivamente, teniendo como teoría que para tener alto rendimiento de semillas y longitud de radícula, se pueden aplicar dosis entre 0 y 60 Kg N ha<sup>-1</sup>. En cambio, en la segunda derivada del peso de mil semillasse tuvo un nivel mínimo de 3.15, señalando que a partir de 0 a 60 Kg N ha<sup>-1</sup> y al aumentar la dosis de nitrógeno, puede aumentar el peso del grano. En Zaragoza- Coahuila, la segunda derivada de peso seco de plántula dió un nivel máximo de 4.58, siendo las dosis entre 0 y 60 Kg N ha<sup>-1</sup> eficaces para obtener vigor en la semilla por la acumulación de materia seca en las plántulas.

La línea CANI-85 en las condiciones de Navidad-Nuevo León obtuvo en las segundas derivadas los niveles máximos de 8.63 para longitud media de plúmula y 0.79 para peso seco de plántula, siendo las dosis de 0 a 60 Kg N ha<sup>-1</sup> eficientes para promover el vigor en las semillas que generen plántulas más largas y con mayor peso. En el resultado de la derivada de peso volumétrico, se obtuvo un nivel mínimo de 2.61, señalando que al aumentar la dosis de nitrógeno aumentará progresivamente el peso volumétrico de la semilla. En las condiciones de Zaragoza-Coahuila, las derivadas para plántulas normales y longitud media de plúmula indicaron los niveles máximos de 2.59 y 0.43, respectivamente, indicando que la adición de nitrógeno, no es suficiente en la producción de semillas de alta calidad fisiológica.

#### 7. 4 Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada

##### 7.4.1 Información emitida del Novaseq 6000

Después de procesar la información emitida por el secuenciador Novaseq 6000, se realizó un filtrado de mapeo y se identificaron 52,337 marcadores SilicoDart de alta calidad y 3,307 marcadores SNPs, con una proporción de muestras del 70 % en marcador "1" o "0", con reproducibilidad de 100% y un polimorfismo de 91.82%, además de encontrar una Heterocigosidad Esperada (HE) de 31.03% con desviación estándar de  $\pm 0.126$ , una Heterocigosidad Observada (HO) de 8.2% con desviación estándar de  $\pm 0.094$ , así como el tener un número de Alelos Efectivos (AE) de 148.049 con una desviación estándar de  $\pm 0.294$ , un Índice de diversidad de Shannon de 69.8% y

su desviación estándar de  $\pm 0.211$ , resultando efectiva la tecnología DArtseq en el análisis de los genomas de la especie de cebada.

De los marcadores SNPs encontrados, se generó la media llamada “One-row”, y se analizaron mediante componentes principales (CP), resultando tres componentes significativos, en el primer componente con 13.67%, el segundo de 10.02% y el tercero de 9.66%, ubicando al testigo Cerro prieto (variedad maltera, barbada) en un solo grupo, mientras que las líneas progenie CANI-82 y CANI-130 en un segundo grupo, el resto de los genotipos en el tercer grupo, incluyendo a los progenitores GABYAN95 y Esperanza.

#### 7.4.2 Análisis de conglomerados de las progenies sobresalientes y progenitores de cebada

Los grupos generados en el CP fueron confirmados al realizar el Análisis de Conglomerados (AC) del genotipado, identificando las similitudes genéticas entre la mayoría de las líneas y sus progenitores con una distancia de ligamiento de 0.2  $\mu\text{m}$  como muestra en la Figura 7.35, donde comparten muchas de las frecuencias de ADN encontradas en la secuencias del genotipado; en cambio, el testigo de cebada maltera cv. Cerro prieto tuvo una distancia de ligamiento de 0.68, indicando que solo en algunas frecuencias fueron similares a las de las cebadas forrajeras imberbe.

Otra confirmación de la agrupación de genotipos se encontró en las líneas CANI-130 y CANI-82 (Figura 7.35), quienes posiblemente comparten frecuencias de ADN similares, y que se difieren del resto de las líneas hermanas por encontrarse a una distancia de ligamiento más alta (0.2  $\mu\text{m}$ ).

Asimismo, los progenitores GABYAN95 y Esperanza se ubicaron a una distancia de ligamiento cercana a cero, seguidas la mayoría de las progenies, teniendo similitudes entre ellas, lo que es muy acertado al compartir la gran mayoría de las frecuencias con sus progenies; cabe señalar que las líneas hermanas CANI-15 y CANI-99 tuvieron frecuencias muy similares, por encontrarse cercanas, así como las líneas CANI-104, CANI-85 y CANI-10, como lo muestra la Figura 7.35, coincidiendo con el análisis de componentes principales (AC) y con los análisis de conglomerados de las etapas 1 y 2,



donde se determinaron las características agronómicas, anatomía y morfología de estomas, rendimiento y calidad de semilla-forraje; además de encontrar una similitud genética entre las líneas CANI-108 y CANI-129 con una distancia de ligamiento de 1.0  $\mu\text{m}$ .

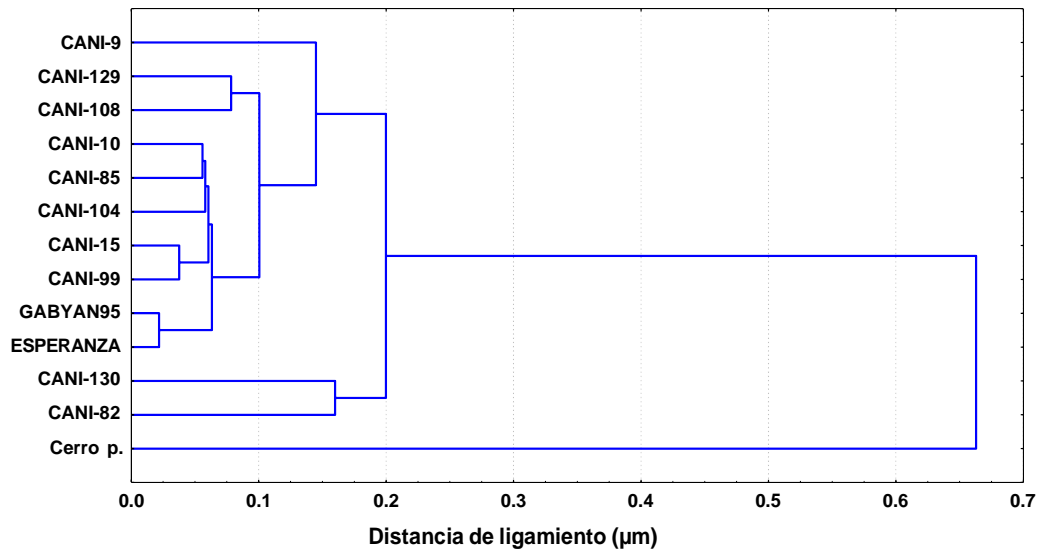


Figura 7.35 Similitudes entre los genotipos seleccionados en el estudio de genotipiado, dados por una distancia de ligamiento de 0.2  $\mu\text{m}$

#### 7.4.3 Análisis de la matriz de dominancia y heterocidad de los cromosomas de las progenies sobresalientes y progenitores de cebada

El DArtseq de “One-row” construido de la información del secuenciador Novaseq 6000, con el 80% de SNPs de calidad, se construyó y analizó la matriz de dominancia y heterocidad de los cromosomas 2H, 3H, 4H, 5H, 6H y los no identificados a que cromosoma pertenecen (ChrUn), donde se identificaron un número de 300 secuencias de alelos dominantes homocigotas (SPNs) de las progenies y progenitor hembra (GABYAN95), señaladas en color verde en Figura 7.35, donde algunos SNPs de algunas progenie se identificaron como heterocigotos o como homocigoto-recesivo, pero en la mayoría se seleccionaron los homocigoto-dominantes, teniendo 34 SNPs en el cromosoma 2H, 59 en 3H, 47 y 4H, representados en la Figura 7.36 y 65 secuencias SNPs en el cromosoma 5H, 46 secuencias en 6H y 46 en ChrUn en la Figura 7.37.

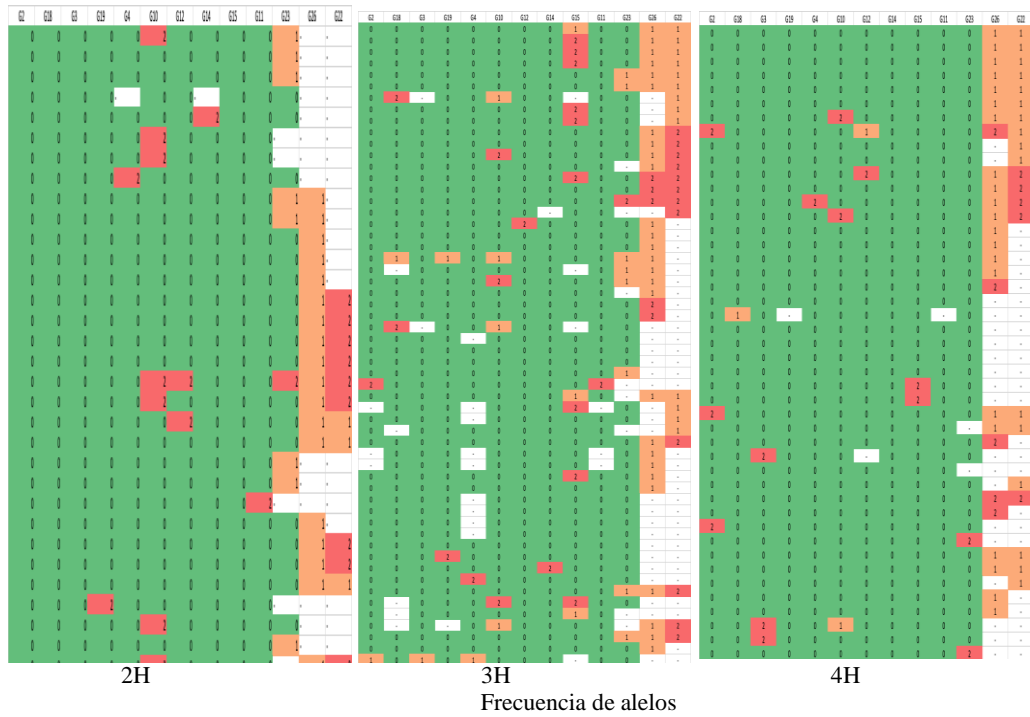


Figura 7.36 Diferencias de alelos sobre cromosomas 2H, 3H y 6H, teniendo homocigoto-dominante (verde), Heterocigoto (rojo), homocigoto-recesivo (naranja), y no se logro diferenciar por el equipo (blanco). Columnas: G2; G18; G3; G19; G4; G10; G12; G14; G15; G11; G23 (GABYAN95); G26 (Esperanza); G22 (Cerro prieto)

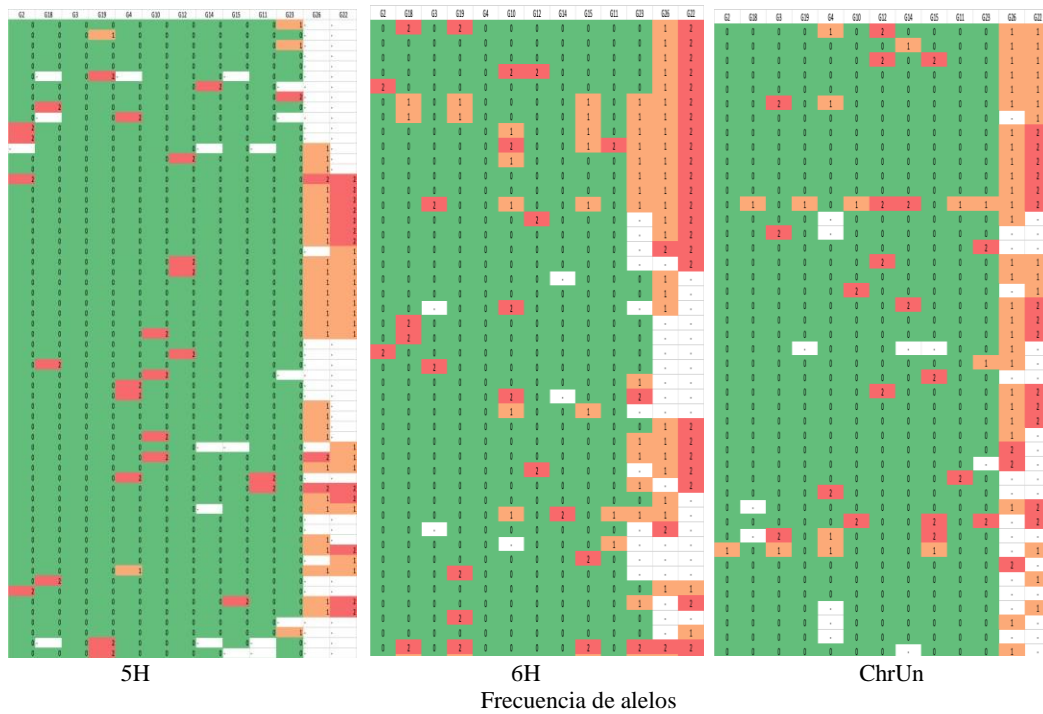


Figura 7.37 Diferencias de alelos sobre cromosomas 5H, 6H y ChrUn (sin cromosoma), teniendo homocigoto-dominante (verde), Heterocigoto (rojo), homocigoto-recesivo (naranja), y no se logro diferenciar por el equipo (blanco). Columnas: G2; G18; G3; G19; G4; G10; G12; G14; G15; G11; G23 (GABYAN95); G26 (Esperanza); G22 (Cerro prieto)

#### 7.4.4 Análisis de alineamiento de secuencias SNPs con biomoléculas involucradas en el proceso de fotosíntesis y *stay-green* de *Hordeum vulgare*

Al ser identificados, se procedió al análisis de alineamiento en pares, donde los polimorfismos de tipo simple de los nucleótidos (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs) seleccionados de los cromosomas 2H, 3H, 4H, 5H, 6H, ChrUn se compararon con las secuencias de las biomoléculas previamente localizadas en el Genbank y Uniprot, identificadas por participar en alguna función en el proceso de fotosíntesis de la planta, además de contemplar a la proteína que induce la senescencia del carácter *stay green*, así como el mismo gen que da la expresión del carácter *stay green* (SGR) en la especie *Hordeum vulgare*.

El resultado del análisis de alineamiento identificó un alto número de secuencias de alelos homocigoto-dominantes con similitud de 88 a 100% en al menos una de las biomoléculas con actividad fotosintética y el *stay green* (Tabla 7.30).

Algunos polimorfismos de tipo simple de los nucleótidos (SNPs), se encontraron en más de una de las biomoléculas, señaladas en color rojo en la Tabla 7.30, donde el SNP identificado como 1002217796 del cromosoma ChrUn, tiene la secuencia nucleotídica: TGCAGCGGCCAATGTGTGGACACCGCCGCCGGCGCCAGCACTGCGGCGGCTGCAACAAGGCGTGCAAG, coincidiendo en diferente rango de nucleótidos con las biomoléculas protoclorofilido oxido reductasa A y B (PORA, ABA), con la proteína *stay green* y con el gen SGR.

Los polimorfismos de tipo simple de los nucleótidos (SNPs), identificados como 100218478 de ChrUn, teniendo la secuencia nucleotídica: TGCAGCTTGTTGGGAGGGTTGTTGTAGATGCTGCTGCAAGTTCCGCCTCCTTTGCTGCGGCGGGAGCCC, el 100218544 del cromosoma 4H: TGCAGCTGACCGTGGACGGGAGGAGAAGGGGTTGCAGAGGGGTGGGCTGCATCTGATGGTGAGTGGAG; y el 100283012 del 5H con la secuencia: TGCAGGGATCAAGATGTGGTCATCGCCACCATGGATGGAAGAGGAGGAAGATTTGGTGTTCATGGCGG, coincidieron en el protoclorofilido oxido reductasa A y B (PORA, ABA).

Otros polimorfismos (SNPs), el 100215297 del 6H, con la secuencia: TGCAGATGGCCGCCAGGATGGGGTTGGACCTGGTCGAGGTAACGCCGCGTCTCCTCCTCCTCCTCCTC, y el 100285019 del 4H con la secuencia nucleotídica:

TGCAGCGCCATTGCCTTCGACCTCAACGTCGAGGTCGAGCCCGAGGACGAGGAGATCGGCC CTCTCGT coincidieron en la proteína *stay green* y el gen SGR, todos señalados en la misma Tabla 7.30.

Tabla 7.30 Secuencias de alelos dominantes (SPNs) encontrados en Dartseq con similitud de 88-100% con biomoléculas involucradas en el proceso de fotosíntesis y *stay green* de *Hordeum vulgare*

BIOMOL1	BIOMOL2	BIOMOL3	BIOMOL4	BIOMOL5	BIOMOL6	BIOMOL7	BIOMOL8	BIOMOL9	BIOMOL 10
100284868	100218544	100254958	100221326	100217796	100217218	100327445	100217138	100215297	100217796
100286471	100213818	100218345	100216585	100218478	100218478	100199528	100214710	100213818	100215297
100286473	100283224	100220373	100282397	100218544	100218544	100212940	100220037	100217796	100218065
100327445	100312600	100221880	100353580	100219863	100219455	100213703	100220373	100222126	100220062
100344712	100345720	100222908		100220259	100282950	100215297	100221880	100285019	100222957
100348533	100345721	100224391		100283012	100283012	100216585	100223286	100312967	100281861
	100348533	100281861		100283217	100312967	100217796	100348533	100314698	100283956
	100350691	100283622		100286688	100328316	100218345	100356515	100327445	100285019
		100327484		100288497	100356515	100219455		100327484	100286130
		100328896		100312083	100362495	100223286		100328896	100286368
		100339331		100313765	100362506	100283012		100353580	100311960
		100339331		100313839		100286471			100312967
		100344712		100345720		100286688			100314698
		100344765		100362495		100312967			100327445
		100346402		100362506		100313106			100329169
		100348533				100315532			100353580
						100327484			100360625
						100339331			
						100344712			
						100353580			
						100359086			
						100362606			

\*BIOMOL= Biomolécula; 1= ATP sintasa; 2= Citocromo b6f; 3= Fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK); 4= Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco); 5= Protoclorofilido oxido reductasa A (PORA); 6= Protoclorofilido oxido reductasa B (PORB); 7=Ácido abséscico (ABA); 8= Proteína Ycf3; 9=Proteína *stay green* inducible a la senescencia en cloroplasto; 10= Gen *stay green* SGR; en color rojo las coincidencias de SNPs en las biomoléculas

En el análisis de alineamiento con la ATPsintasa se encontraron seis secuencias de alelos dominantes de polimorfismos (SNPs), dos de ellas, del cromosoma 2H y otras dos del 5H y una del 4H; por mencionar algunos, el SNPs identificado como 100344712 del cromosoma 4H, coincidió en 16 nucleótidos de 18 de la ATPsintasa en la posición de 233 al 250, teniendo 88.89 % de similitud, como indica la Figura 7.38. En otros SNPs del cromosoma 5H, los identificados como 100327445 y 100286471 coincidieron entre 92.86 a 100% en 13 de 14 nucleótidos en la posición 357 a 370 en el primero y 11

nucleótidos 702 a 712 en la segunda secuencia, identificados los nucleótidos en el Anexo 1.

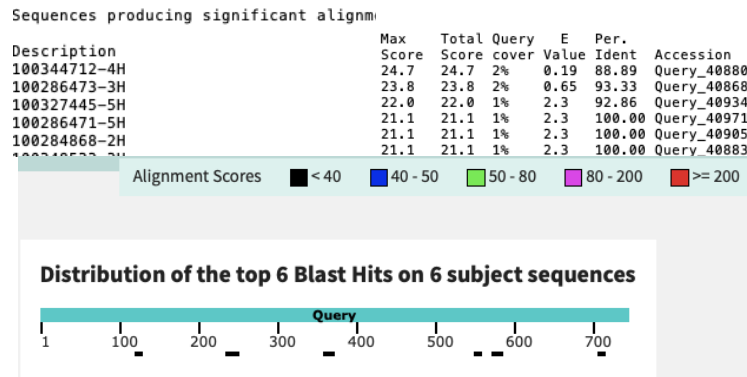


Figura 7.38 Alineamiento en pares de ATPsintasa y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

El alineamiento con la biomolécula citocromo b6f indicó ocho secuencias de alelos dominantes de los polimorfismos (SNPs), de las cuales cinco fueron del cromosoma 3H, dos del 4H y una del 2H (Figura 7.39), teniendo dos SNPs 100345721 y 100345720 del 3H con 77.27 % de coincidencia en 34 de 44 nucleótidos en la posición 604 a 646 (Anexo 2). En el SNPs 100283224 del mismo cromosoma 3H, coincidieron 13 de 14 nucleótidos de 44 del citocromo b6f en la posición 320 a 333 con 92.86 %, y el resto SNPs tuvieron el 100% de similitud como se observa en la Figura 7.39, de 11 y 12 nucleótidos de la biomolécula, 11 y 12 nucleótidos de las secuencias de los genotipos en diferentes rangos de la secuencia del citocromo b6f (Anexo 2).

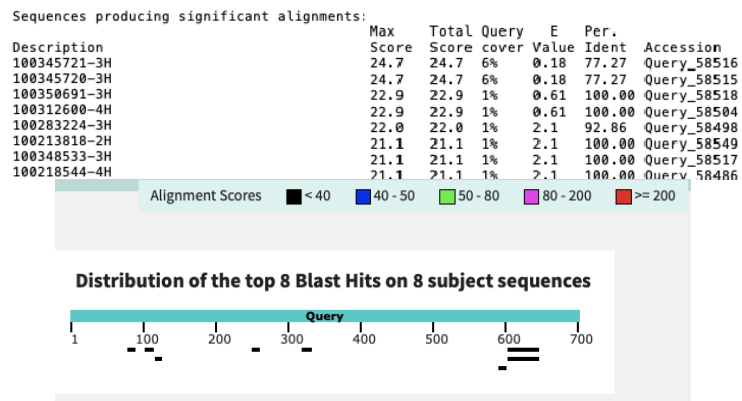


Figura 7.39 Alineamiento en pares de Citocromo b6f y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

Con la biomolécula fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), coincidieron desde 88.24 a 100% en 16 secuencias (SNPs) del estudio, seis SNPs del cromosoma 2H, tres del 3H, uno del 4H, cuatro del 5H, dos del 6H y una secuencia no identificada en algún cromosoma registrada como ChrUn, distribuidos a lo largo de la secuencia de la biomolécula (Figura 7.40).

Tres de los cinco SNPs del cromosoma 5H resultaron con 100% de coincidencia en 11,12 y 13 nucleótidos en las posiciones 972 a 982, 1663 a 1674, 1014 a 1026 (Anexo 3). Otras seis secuencias de alelos dominantes (SNPs) que resultaron con 100% de coincidencia, fueron cinco SNPs con una coincidencia entre 92.86 y 93.33% y otras dos con 88.24%, en otras posiciones a lo largo de la biomolécula (Figura 7.40), entre las posiciones 972 a la 1800 se encontraron la mayoría de los SNPs en coincidencia, como resultó el SNPs 1003328896, al tener 15 de 15 nucleótidos con 100% de similitud en la posición 1468 a 1482 de la biomolécula; otra 1003327484 con 18 de 19 nucleótidos con 95% de similitud en la posición 1432 a 1450 del fosfoenolpiruvato, el Anexo 3, muestra una mayor perspectiva de la coincidencia entre los nucleótidos de las moléculas del resto de secuencias de alelos dominantes.

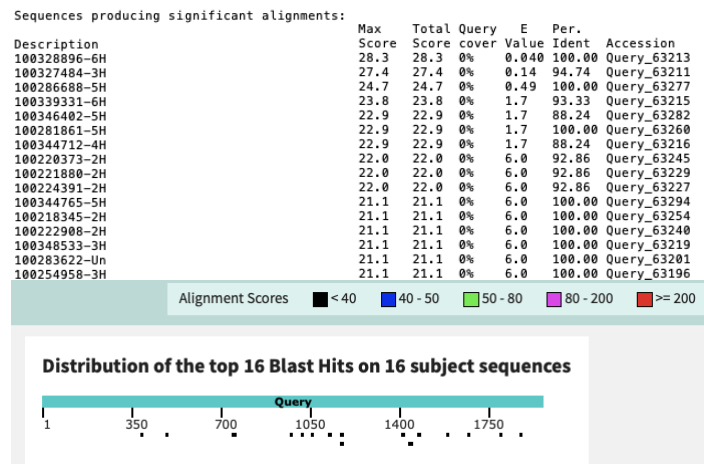


Figura 7.40 Alineamiento en pares de fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

En la biomolécula de Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco), únicamente se encontraron cuatro secuencias, donde los SNPs 100216585 y 100313468 del 5H, así como 100282397 del 4H indicaron 100% de coincidencia, en 14, 11 y 12

nucleótidos respectivamente (Anexo 4) en las posiciones de 483 a 496, de 168 a 178, y de 267 a 278 la molécula Rubisco, además el SPNs 10021353580 con 89.47% de coincidencia, en la posición 367 a 385 en 17 de 19 nucleótidos de la biomolécula (Figura 7.41).

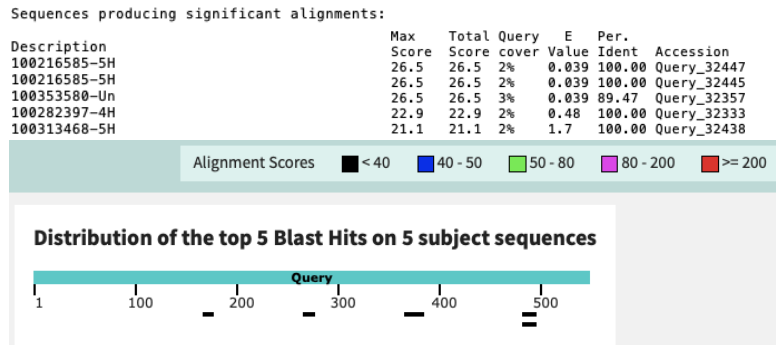


Figura 7.41 Alineamiento en pares de Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

En el alineamiento con la molécula de protoclorofilido oxido reductasa A (PORA), se obtuvieron 15 secuencias de alelos dominantes del estudio con un 100% de coincidencia con excepción del SNPs 100286688 del 5H que tuvo 92.86 % de coincidencia (Figura 7.42), en 13 de 14 nucleótidos (identificados en el Anexo 5) en la posición 179 a 192 de PORA; el alto porcentaje de similitud lo presentaron dos SNPs del cromosoma 2H, tres del 3H, dos del 4H, otros tres del 5H, uno del 6H y dos de las secuencias ChrUn, en diferentes rangos a lo largo de la molécula de PORA entre las posiciones 14 a la 253 en 11, 12, 13 y 14 nucleótidos (Anexo 5).

Cabe señalar que algunos SNPs del estudio tuvieron dos rangos de coincidencia en la misma biomolécula, tal es el caso del SNPs 1002218544 del 4H, con 100 % de coincidencia en el primer rango en la posición 13 a 26 en 14 nucleótidos (Anexo 5), y el segundo en la posición 857 a 874 en 16 de 18 nucleótidos de la secuencia de PORA, con 89% de coincidencia (Figura 7.42).

También en la Figura 7.42, se muestra que la secuencia 100345720 obtuvo dos rangos de coincidencia con esta biomolécula, una en la posición 149 a 160 en 12 nucleótidos (100% de similitud) y la segunda en la posición 612 a 627 en 15 de 16 nucleótidos de PORA con 94 % de similitud. Otra secuencia fue 100362495 indicando

en 11 nucleótidos ambos rangos con 100% coincidencia, uno en la posición 185 a 195 y el otro en 243 a 253.

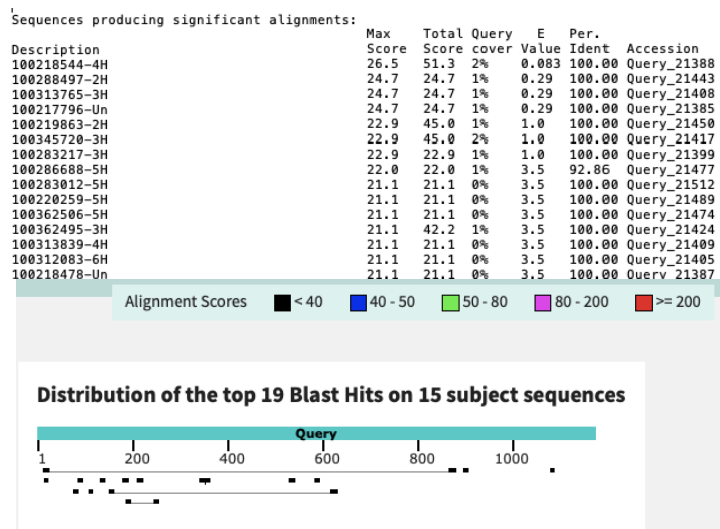


Figura 7.42 Alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa A (PORA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

En el análisis de protoclorofilido oxido reductasa B (PORB) y las secuencias de alelos dominantes (SNPs), se encontraron 11 secuencias con 100% de coincidencia, con excepción del SNPs 100219455 del 4H que fue de 93.75% de coincidencia. El resto de SNPs fueron de los cromosomas 3H (dos SNPs), 4H (tres SNPs), 5H (dos SNPs), 6H (2 SNPs) y en ChrUn (uno SNPs), como se muestran en la Figura 7.43. Es interesante referir que el SNPs 100219455 antes mencionado, obtuvo dos rangos de coincidencia, uno en la posición 13 al 26 en 14 nucleótidos (Anexo 6) con 100% de similitud, y el segundo en la posición 857 a 874, en 16 de 18 nucleótidos de PORB con 89% de similitud.

En otra secuencia, fue 1003345720, quien igualmente tuvo dos rangos nucleótidos de coincidencia (7.43), estando en el primer rango en la posición 149 a 160 en 12 nucleótidos de PORB (Anexo 6) con 100% de similitud y el segundo rango en la posición 612 a 627 en 15 de 16 nucleótidos de la biomolécula (Anexo 6), con 94 % de coincidencia entre ambas secuencias.



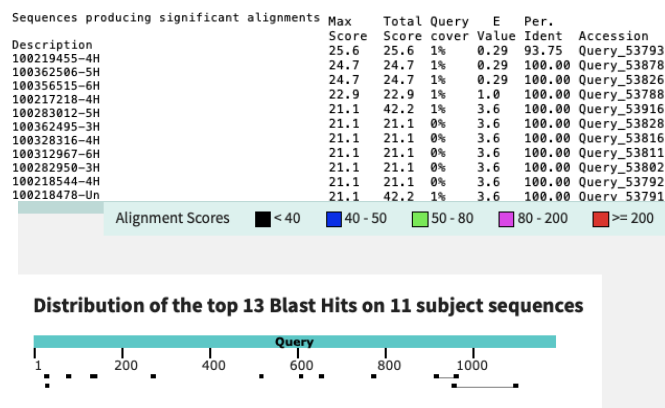


Figura 7.43 Alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa B (PORB) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

Entre la hormona ácido abscísico (ABA) y los alelos dominantes (SNPs), se encontraron 22 SNPs el mayor número de alineamientos entre 81.48 a 100% de coincidencia entre secuencias con porcentajes altos en al menos un rango de similitud, siendo 12 SNPs del cromosoma 5H, dos del 4H, tres del 6H, dos del 3H, una en 2H, 4H y ChrUn, 16 secuencias de alelos dominantes (SNPs) con 100% (Figura 7.44), y otras hasta con dos o tres rangos de secuencias Hits en coincidencia en un mismo SNPs, como 100344712 del cromosoma 4H, que tuvo tres rangos de secuencias de nucleótidos en coincidencia, uno en la posición 832 a 850 de ABA, en 18 de 19 nucleótidos con 95 % de similitud.

El segundo rango en 714 a 727 de la biomolécula, en 13 de 14 nucleótidos con 93% y el tercero en la posición 1209 a 1219 de ABA, en 11 nucleótidos con el 100% de coincidencia (para identificar las secuencias nucleotídicas con más exactitud ver el Anexo 7). Otro SNPs con dos rangos de coincidencia fue 1002286471 del 5H, uno en la posición 405 al 418 de ABA, en 14 nucleótidos y en el segundo en 697 a 708, en 12 nucleótidos ambos rangos con 100% de similitud.

El SNPs identificado como 100219455 del cromosoma 4H, presentó dos rangos de 100% coincidencia en la misma molécula de ABA, mostrada en la misma Figura 7.44, uno en la posición 807 a 819, en 13 nucleótidos de la biomolécula y otro en la posición 762 a 772 en 11 nucleótidos de la misma (Anexo 7). Otra secuencia con dos rangos fue 100286688 del 5H, el primero en la posición 916 a 926 y el segundo en 890 a 900 ambos con 100% de coincidencia en 11 nucleótidos, el resto de alelos dominantes (SNPs),

tuvieron también entre 81.88 a 100% de coincidencia entre 11 a 14 nucleótidos de similitud entre las dos moléculas, pero en diferente posición (Figura 7.44 y Anexo 7).

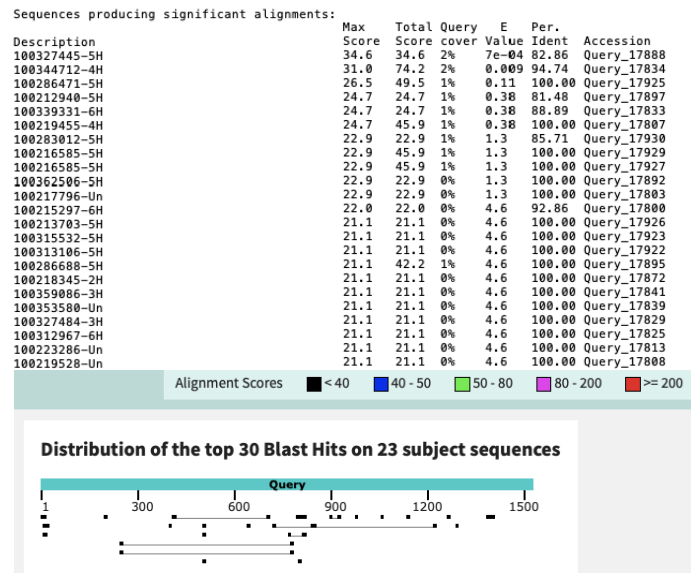


Figura 7.44 Alineamiento en pares de Ácido abscísico (ABA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

En la Figura 7.44, llama la atención el SNPs 100327445 del cromosoma 5H, que tuvo 83% de coincidencia, con un número mayor de nucleótidos 29 de 35, en la posición 788 a 820 de la molécula de ABA.

Con respecto al alineamiento con la biomolécula Ycf3, se encontraron ocho SNPs de alelos dominantes, tres de ellos del cromosoma 2H, dos del 3H, uno de los cromosomas 4, 6 y ChrUn; con 100 % de coincidencia en todos los alineamientos, estando los SNPs 100217138 y 10038533 del cromosoma 3H en las posiciones 356 a 368 y 384 a 394 cada uno (Figura 7.45), en 13 y 11 nucleótidos respectivamente de la biomolécula Ycf3 (Anexo 8).

Los SNPs 100220373, 100221880 y 100214710 del cromosoma 2H se encontraron en las posiciones del nucleótido 152 al 163, del 152 a la 163, y del 486 a 496 de la biomolécula, respectivamente (Figura 7.45).

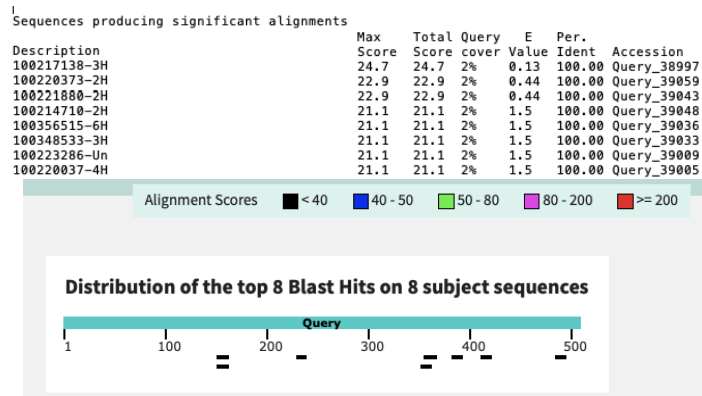


Figura 7.45 Alineamiento en pares de Ycf3 y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

En el alineamiento con las biomoléculas que indica la característica *stay green*, se encontraron 11 secuencias de alelos dominantes del estudio con alta coincidencia con la proteína *stay green* inducible a la senescencia a nivel cloroplasto, tres SPNs del ChrUn, cuatro del 6H, un SNPs de los cromosomas 3H, 4H y 5H. Ocho de estos alelos dominantes tuvieron 100%; el SNPs 100222126 y 100353580 de alelos no identificados en un cromosoma (ChrUn) tuvieron 88.24 y 77.78 % de coincidencia en la posición 43 a la 59 y 16 a la 38 (Figura 7.46), en 15 de 17 y en 21 de 27 nucleótidos de la proteína (Anexo 9).

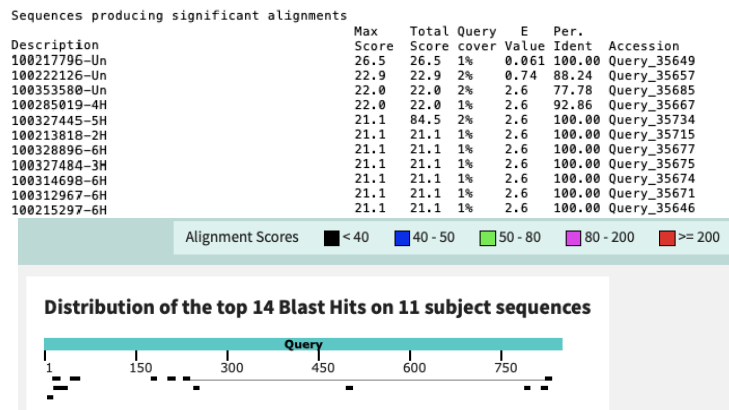


Figura 7.46 Alineamiento en pares de proteína *stay-green* inducible a la senescencia y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

Otro SNPs con identificación 100285019 del 4H tuvo el 92.86% de coincidencia en la posición 201 a 214, en 13 de 14 nucleótidos de la proteína *stay green*, (Figura 7.46). En el SNPs 100327445 del cromosoma 5H, se encontraron cuatro rangos de coincidencia en las posiciones 34 a 44, 47 a 57, 53 a 63 59 a 69 en 100 % de coincidencia en 11 nucleótidos de ambas secuencias (Figura 7.46); mientras el SNPs

100217796, coincidió en 14 nucleótidos en la posición 14 a 27 en 100% de similitud en la secuencia (Anexo 9).

Con la secuencias de nucleótidos del gen de proteína *stay green* (SGR) y los SNPs del estudio, el análisis encontró 17 secuencias con 93.75 a 100 % de coincidencia con este gen, seis SNPs del cromosoma 5H, cuatro del 6H, dos del 3H y dos del ChrUn (Figura 7.47), teniendo entre dos a cuatro rangos coincidencia en una misma secuencia de alelos dominantes, como el SNPs 100286368 del cromosoma 5H, con 94 y 100 % de coincidencia en cada rango, en las posiciones 1288 a 1304 en 16 de 17 nucleótidos, y el segundo del 1293 a 1304 en 12 nucleótidos del gen (Anexo 10 y 11). El SNPs 100327445 del mismo cromosoma 5H tuvo dos rangos de coincidencia, donde el primer rango coincidieron 15 de 16 nucleótidos en la posición 634 a la 648 con 94% de coincidencia; y en el segundo rango, en 11 nucleótidos en la posición 1147 al 1157 con 100% de coincidencia (Figura 7.47).

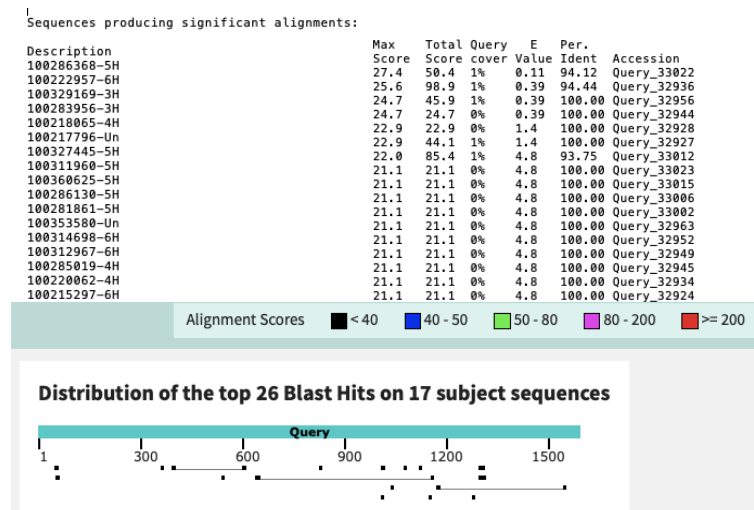


Figura 7.47 Alineamiento en pares del gen de proteína stay-green (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

La secuencia 1002217796 del ChrUn indicó en el análisis de alineamiento un 100% de coincidencia en los dos rangos, uno en la posición 1165 1176 en 12 nucleótidos y el segundo en 1534 a 1544 en 11 nucleótidos (Anexo 10 y 11). En el SNPs 100222957 del cromosoma 6H, se encontraron cuatro rangos de nucleótidos, uno en la posición 1286 a 1303 en 17 de 18 nucleótidos (Anexo 10 y 11) con 94% de similitud, el segundo en 1292 a 1304 y el tercero en 1293 a 1305 en 13 nucleótidos en ambos rangos con el

100% de coincidencia, y el cuarto y último rango en la posición 1294 a 1308 en 14 de 15 nucleótidos con 93% (Figura 7.47).

En cambio, las secuencias de alelos dominantes del estudio 1002283956 del cromosoma 3H y 100218065 del 4H, indicaron un 100 % de coincidencia (Figura 7.46), en las posiciones 1002 a la 1014 y de 48 a la 59 en 13 y 12 nucleótidos del gen (Anexo 10). En la Figura 7.47, muestra otros SNPs con 100% de coincidencia, del cromosoma 5H los identificados como 100286130, 100281861, 100360625 100311960 en 11 nucleótidos en diferentes posiciones (Anexo 10 y 11); así como a 100314698 y 100312967 del cromosoma 6H, que también tuvieron 100% de coincidencia, pero en otros 11 nucleótidos en las posiciones 1112 a 1122 y 1068 a 1078 del gen de SGR.

## VIII. DISCUSIÓN

### 8.1 Etapa 1: Estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

#### 8.1.1 Variables agronómicas y de sensores infrarrojos en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

La localidad San Pedro de las Colonias-Coahuila, se puede considerar una buena condición para el desarrollo vegetativo y rendimiento de las cebadas forrajeras, al tener mayores valores en las variables agronómicas (temperatura de dosel, índice de vegetación. Índice de contenido de clorofila y rendimiento de forraje) y en el estudio estomático, debido a las temperatura del ambiente registradas de los meses diciembre a abril entre los años 2016 y 2017, con promedio de 26.5 °C, según el CNPT (2019), favoreciendo el desarrollo de la planta y teniendo un efecto positivo en el rendimiento como lo afirman otros estudios (Navarro *et al.*, 2012; González *et al.*, 2016).

La poca variación en los resultados de la mayoría de las variables a través de los muestreos, se debió posiblemente a la sensibilidad y adaptación a las condiciones del ambiente sobre todo de las cebadas (Nelson *et al.*, 2009), que conforme avanzó el desarrollo de los cultivos, hubo un aumento en la temperatura ambiental de las localidades, causando probablemente cambios en la síntesis de proteínas, pared celular, espesor de la cutícula y conductancia estomática como lo menciona Trewavas (2003); además de que la temperatura del dosel de las parcelas tendió a estar en equilibrio, en respuesta al cambio del clima como mencionan Houspanossian *et al.* (2007); este equilibrio se reflejó en el aumento de la altura de planta, sin afectar el rendimiento de forraje, donde las progenies de cebada forrajera en comparación con otras variedades de la misma especie, presentaron alturas de planta (105.4 a 109.6 cm) superiores a variedades del Bajío como Armida, Esperanza, Maravilla y Esmeralda reportadas entre 70.0-90.0 cm, y en el rendimiento, donde las progenies del estudio (11.7 a 12.8 Kg ha<sup>-1</sup>) obtuvieron valores similares o superiores a estas variedades, que reportaron entre 5.9-11.7 Kg ha<sup>-1</sup> de rendimiento (Zamora *et al.*, 2010; 2017).

Además, el tener la práctica de cosechar el forraje de las cebadas en el inter de los 75 a 90 días después de la siembra, como fue en el estudio, donde se encontraron las progenies en la etapa fenológica de inicio de estado masoso del grano, permite obtener mayor cantidad de forraje como lo menciona Wilson *et al.* (2017).

Así mismo, las líneas progenie y el progenitor GABYAN95 al presentar valores máximos del índice de verdor y rendimiento de forraje a los 75 dds, se detecta su valor agronómico de precocidad como especie de cebada forrajera (Romero *et al.*, 2013; Colín *et al.*, 2007, 2009; Domínguez *et al.*, 2016), que en comparación a los testigos de otras especies e inclusive de la cebada maltera cv. Cerro prieto. Sin embargo, pudiera pensarse que existe una asociación entre ambos parámetros, como lo aseguran en otras especies en diferentes zonas de producción, al afirmar que el índice de verdor tiene una alta relación con el rendimiento y biomasa (Verhulst *et al.*, 2010; Chávez *et al.*, 2017), lo cual no se presentó tal relación en el estudio.

El índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) puede variar y depende del período del año (Bastidas *et al.*, 2016), como se observó en las cebadas forrajeras del estudio, al registrar variaciones de un muestreo a otro; igualmente tuvieron comportamientos similares a estudios anteriores sobre maíz, donde a etapas fenológicas tempranas se registraron valores altos de NDVI, al avanzar las etapas se hicieron progresivos hasta obtener los valores máximos, y posteriormente disminuyeron en etapas tardías (Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007).

Otras respuestas de interés fueron el incremento de la temperatura de dosel (TEMP), altura de la planta (ALT), el índice de clorofila (ICC) y permanecer el valor del rendimiento de forraje (REND) a través de los muestreos, siendo un reflejo claro del crecimiento y desarrollo de la planta, dado por los valores de TEMP y ALT a lo largo de las etapas fenológicas de las progenies y testigos, llegando a incrementar el ICC hasta un estado de llenado de grano en las parcelas, como se ha encontrado en otros estudios que reportan una relación positiva y ascendente entre etapas fenológicas y la concentración de clorofila en trigo (Lopes y Reynolds, 2012). Sin embargo, hay una brusca disminución en la etapa de llenado de grano como se encontró en trigo (Babar *et al.*, 2002), o puede descender el ICC lentamente inclusive hasta madurez fisiológica de

grano, como fue en algunas progenies del estudio, y coincide lo reportado en trigo con *stay green* en condiciones de calor y combinado calor-sequía (Lopes y Reynolds, 2012).

Además, el tener un aumento del ICC en el tiempo de desarrollo de las progenies, también pudiera ser utilizado para predecir la probable biomasa o rendimiento de forraje como lo asegura Bertholdsson (2013) en cebadas en suelo inundado, así como en trigo *stay green* al estar correlacionados NDVI y el rendimiento en base a la madurez fisiológica (Lopes y Reynolds, 2012).

### 8.1.2 Estudio estomático en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

En el estudio estomático al encontrar poca variación en los índices estomáticos (IEH y IEE), se pudiera contemplar que el aumento de la temperatura de las condiciones ambientales a través de los muestreos, no tuvo efecto en la distribución de los estomas en ambas superficies (haz y envés), a diferencia de otros estudios, donde llegó a aumentar ante un estrés hídrico con temperaturas entre 19 a 32°C en *Coffea canephora* (Quintana, et al., 2017). Sin embargo, en este estudio, las líneas de cebada y los testigos, presentaron un aumento en las densidades estomáticas (DEH y DEE), lo que sugiere, que se debió a otro tipo de estrés aparte de los cambios de temperatura en las localidades, tal vez al reducido número de riegos aportados en campo, sea uno u otro, difiere de otras especies, que reportaron aumento en la densidad estomática *Coffea canephora* (Quintana, et al., 2017), o disminución como fue en *Sequoia sempervirens* a los cambios de ambientes con poca humedad y precipitación (Toral et al., 2010).

En la morfología y anatomía de los estomas de los genotipos estudiados, se tuvieron cambios en la apertura del estoma en longitud y ancho, como un reflejo de protección (Pandey et al., 2007), al presentar ligeros aumentos del ancho y largo en el envés (AE y LE), en respuesta a las condiciones ambientales de las localidades, y posiblemente a la disponibilidad de agua otorgada durante el desarrollo de los genotipos.

No obstante, pudieran estar influyendo otros factores en el estudio estomático de los genotipos estudiados, ya que se ha reportado que el tamaño de los estomas, la densidad y el índice estomático varían en función de la latitud donde se siembran los



cultivos, por existir una asociación en los cambios del fotoperiodo, la disponibilidad hídrica y las condiciones edáficas, teniendo un importante papel en la aclimatación de un cultivo, lo que pudo haber sido en las líneas de cebada, al encontrar variaciones en el estudio estomático del envés de la hoja bandera, proporcionando de tal forma una resistencia estomática y evitando el exceso de transpiración (Toral *et al.*, 2010).

Esta sugerencia, se afirmó al presentar mayores valores y significancia en las características estomáticas del haz, teniendo la superficie del haz de la hoja de las líneas de cebada una mayor respuesta a las condiciones climáticas y tal vez a la altitud, radiación solar, disponibilidad hídrica y hasta las condiciones edáficas de las localidades estudiadas, y generar esta resistencia y disminución de la transpiración en la planta.

### 8.1.3 Relación de variables y genotipos en la estabilidad del carácter *stay green* en progenies de cebada

El encontrar a la altura de la planta en un grupo distante y reflejar poca relación con el resto de variables, pudiera pensarse que no tiene ninguna influencia o dependencia con las otras variables, como se ha detectado en otros cultivos, que registraron que a mayor altura de la planta se genera más biomasa (Salas *et al.*, 2009), o por lo menos de mantenerse la biomasa hasta un tiempo óptimo de cosecha del cultivo forrajero (Espitia *et al.*, 2012), que en ambos casos se identificaron en las progenies y GABYAN95 con valores altos tanto en altura como en rendimiento, por lo que se sugiere la existencia de una asociación de la altura con el rendimiento de forraje en las cebadas forrajeras.

Otra asociación que se presentó fue la temperatura y el ancho de estoma del haz y envés, que a su vez se relacionaron con el rendimiento y el índice de verdor, lo que sugiere, en primer término que la temperatura de la planta, induce a los cambios en la apertura del estoma de ambas superficies de la hoja (Pandey *et al.*, 2007), produciendo posiblemente un aumento en la resistencia estomática la condición del ambiente (Quintana *et al.*, 2017; Toral *et al.*, 2010), además de poder producir mayores rendimientos y tasas fotosintéticas al tener mayor verdor en la planta (Lawson *et al.*, 2014).

Así mismo, esta relación entre el rendimiento de forraje y el índice de verdor, sugiere cierta sensibilidad de la tecnología infrarroja en las progenies de cebada forrajera y otras especies, como los testigos estudiados, en una condición simulada de crecimiento y rendimiento (Doraiswamy *et al.*, 2003); así como los cambios fisiológicos, que pudieran provocar las diferentes condiciones climáticas (Gilbert *et al.*, 1997).

El resto de las variables estomáticas tanto del haz como del envés (longitud del estoma, densidad e índice estomático) al estar agrupadas con el contenido de clorofila, revela que en cereales de grano pequeño la respuesta del contenido de clorofila está relacionada con la cantidad y forma de los estomas, como afirman algunos autores para otras especies (Toral *et al.*, 2010; Lawson *et al.*, 2014; Quintana *et al.*, 2017).

El análisis de conglomerados como método multivariado, diferenció a las cebadas de otras especies como triticale y trigo, especialmente por las características estomáticas y retraso de crecimiento (menor altura de la planta), confirmando que este método multivariado resulta un apoyo eficiente para entender la relación entre variables y proporcionar una caracterización parcial de los genotipos evaluados, permitiendo inclusive seleccionar por características deseables (Torres *et al.*, 2019), y a la aseveración de que las diferencias entre los grupos indican la variabilidad genética presente en las cebadas forrajeras imberbes (Colín *et al.*, 2007).

Las características agronómicas y morfológicas de los estomas en las progenies G9, G10, G3, G14, G17, G19 y G20, permitió evidenciar la relación del crecimiento de la planta con una baja densidad estomática del envés, coincidiendo con otras especies como tomate de cáscara (Cristiano *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2013); y a la vez con alto índice de verdor y producir altos rendimientos de forraje, confirmando entre otras, el tener niveles interesantes de tolerancia a sequía, característica sobresaliente de las cebadas forrajeras (Colín *et al.*, 2007; 2009), así como el coincidir con cebadas transgénicas con densidades estomáticas bajas en plantas más eficientes en el uso del agua y tolerantes a sequía, provocando reducciones sustanciales en el intercambio de gases en las hojas, sin afectar la altura de la planta, rendimiento de biomasa vegetal, así como, tanto en el peso como el número de semillas (Hughes *et al.*, 2017).

Algunos estudios, afirman que a menor densidad estomática y mayor tamaño de los estomas (longitud), disminuye la evapotranspiración, y se retiene mayor

concentración de clorofila (Álvarez *et al.* 2018), teniendo un aspecto relevante en la tolerancia a la sequía, sin tener cambios negativos en la planta, forraje y semillas (Hughes *et al.*, 2017). Sin embargo, se difiere un poco a estas afirmaciones, en las progenies G4, G6, G15 y G18, donde se caracterizaron con alta densidad, bajo índice y ancho en el envés, pero alto contenido de clorofila y rendimiento de forraje, siendo de alguna manera más efectivo el aparato estomático del envés de la hoja, aumentando la resistencia estomática como reflejo a una condición ambiental, provocando mayor actividad fotosintética y produciendo más biomasa, como se ha reportado en otras especies (Quintana *et al.*, 2017; Toral *et al.*, 2010), y en cebadas transgénicas (Hughes *et al.*, 2017).

Las líneas G2, G5, G12, G13 y G16 tienen una mayor eficiencia en el aparato asimilador (estomas) a la radiación solar y en la producción de materia seca (Rivera *et al.*, 2005; Rodrigues *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2008), además tienen alta capacidad de resistencia estomática en la apertura o cierre de estomas expuestos a los cambios de la temperatura en la planta (Pandey *et al.*, 2007), en respuesta a la condición ambiental sin afectar el crecimiento de la planta y su biomasa (Quintana *et al.*, 2017; Toral *et al.*, 2010), y quizás también a su respuesta genética positiva a la temperatura sin afectar el rendimiento de forraje (Houspanossian *et al.*, 2007).

Todas las progenies a pesar de encontrarse en diferentes conglomerados, se caracterizaron con los valores más altos de altura de la planta y de rendimiento de forraje, superando a los testigos y a otros reportes de cebadas forrajeras (entre 92-100 cm; Colín *et al.*, 2007) y cebadas malteras (entre 70 y 90 cm; Zamora *et al.*, 2017), y coincidiendo con otras cruza de cebada como la cruza de la variedad Esperanza x O'Connor que obtuvieron alturas promedio de 106 cm (Wilson *et al.*, 2017).

Mientras que las progenies G1, G2, G4, G5, G6, G7, G8, G11, G12, G13, G15, G16, G18, se caracterizaron con mayor estabilidad en el carácter *stay green*, por contener altos valores y asociaciones entre el índice de verdor, altura de planta y el rendimiento de forraje, dado en algún instante por la absorción de radiación, el proceso de aumentar los fotosintatos en la hojas, reflejado por el contenido de clorofila, siendo una evidencia muy marcada en las progenies con el carácter de *stay green* clasificado de tipo funcional (Thomas y Howarth, 2000), y como un proceso primordial durante

crecimiento y desarrollo de un cultivo, que concluye con altos valores de biomasa y rendimiento de grano, como afirman algunos autores en especies como sorgo, trigo y maíz (Reynolds *et al.*, 1999; Jordan *et al.*, 2012; Raun *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2007) y que también se reflejaron en altos rendimientos en las progenies.

Además, al encontrar esta asociación entre el contenido de clorofila y el rendimiento de forraje en los genotipos de cebada forrajera, sugiere que la utilización de sensores infrarrojos en el caso del Spad, ayuda a generar información sobre una asociación genética (dado por las progenies) y ambos parámetros, coincidiendo con estudios de otros cereales como trigo de invierno (Ristic *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2005) o diferir en trigos de primavera (Barutcular *et al.*, 2014).

## 8. 2 Etapa 2: Selección de progenies sobresalientes en base a rendimiento y calidad de semilla-forraje

### 8.2.1 Factores que influyen en el rendimiento y calidad de semillas

Las diferentes condiciones de clima, latitud, altitud y tipo de suelo de las localidades, pudieran ser adecuadas pero no son las más óptimas para producir semilla de calidad de los genotipos estudiados, ya que son ambientes semiáridos y poco prósperos; sin embargo, llegaron a producir altos rendimientos de semilla, como en otros cereales producidos en suelos más óptimos (Beltran *et al.*, 2011; Santibañez, 1994), aunque no especifican los tipos de suelo, se sabe que el tipo franco medio es el ideal para producir cebada (FAO, 1994), pero en este estudio, a pesar de que el suelo de Zaragoza-Coahuila es de tipo calcisol-lúvico-calcico (Arriaga *et al.*, 2000), las nuevas líneas lograron adaptarse y producir valores altos de rendimiento y calidad de semillas, y pueden competir con otras especies comerciales que se producen en el noreste de México, señaladas en el reporte del Centro de Estudios para el desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA, 2015).

El rendimiento de semillas de los genotipos, se encontró posiblemente limitado por el déficit hídrico, debido al número de riegos (tres) durante el desarrollo de las parcelas, ya que al tener poca disponibilidad de humedad en la etapa de llenado del grano, pudo

afectar el rendimiento (González *et al.*, 2016), justo fue el caso, pues el último riego fue aplicado a los veinte días antes de esta etapa fenológica de los genotipos.

A pesar de ello, en la mayoría de las líneas de cebada, el peso de mil semillas fue alto, probablemente generado por los mismos ciclos y factores ambientales de producción ya que tienen una influencia sobre el desarrollo del cultivo (Cha *et al.*, 2002; Raya *et al.*, 2012) y en particular en el peso de la semilla, si existen buenas condiciones en el ciclo durante el llenado de la semilla, se tiene mayor peso (García *et al.*, 2003); sin embargo, como sea descrito no fueron las más óptimas; y otra influencia es el tiempo o época de siembra, que es seguramente el efecto positivo en la semilla producida, el haber sembrado en la época de otoño, se obtiene un mayor peso de la semilla debido a las temperaturas frescas, y es muy común en los cereales de invierno (Pérez *et al.*, 2016).

En cuanto a la variación del peso volumétrico en el estudio, se percibir algunos aspectos de interés que generaron esta variación en los genotipos, uno es debido a los diversos los porcentajes del contenido de humedad de la semilla en cada genotipo, pues ambos parámetros están relacionados, la alta o baja cantidad de agua en la semilla afecta el valor del peso y espacio que ocupa la semilla en un volumen determinado (Moreno, 1996), lo cual deriva variación en el peso volumétrico, lo ideal y como se encontró en el estudio, es producir semilla con bajos contenidos de humedad entre 11.5 y 13.5 % (NMX-FF-043-SCFI-2003; López *et al.*, 2005) para un buen manejo, conservación y almacenamiento de semilla (Abadía *et al.*, 2013). Otro aspecto, que ha afectado en gran

parte de los parámetros de calidad de la semilla en este estudio, fue la condición climática de cada localidad, sobre todo por la temperatura del ambiente, ya que juega un papel importante en el desarrollo de la semilla y se refleja también en su peso, si se tienen temperaturas muy bajas o altas, como se registraron en los meses de febrero-marzo de 22 a 30 °C (CNPT, 2019) en Zaragoza- Coahuila, en la etapa de llenado pudo causar estrés y disminuir o variar el peso de la semilla y el volumétrico (Pérez *et al.*, 2016), así mismo, la variación de las temperaturas también efecto el ciclo biológico de las plantas, reduciéndolo hasta causar precocidad (Alam *et al.*, 2007), característica que en ocasiones es considerada sobresaliente en las cebadas forrajeras (Colín *et al.*, 2007, 2009) por aprovechar el follaje en etapas tempranas, pero en la producción de semillas

no es deseable, ya que altera el peso durante la etapa de llenado del grano (García *et al.*, 2003), y por ende generó variación en el peso de la semilla y el volumétrico.

Sin embargo, estos parámetros pudieran también ser parte de la característica propia de las líneas, pues en estudios sobre descripción de variedades de cebada maltera reportaron el peso de mil semillas y el peso volumétrico como parte de los descriptores varietales, reconociendo estas anomalías del grano durante su formación (de Dios, 1996; Ataei, 2006; Garnero, 2012), lo que hace interesante, que los resultados emitidos de este estudio sean para una futura descripción de nuevas variedades.

La calidad fisiológica de las semillas es el punto de partida para la producción y es indispensable para una buena respuesta en establecimiento de un cultivo (Doria, 2010). Sin embargo, también puede afectarse por las condiciones climáticas en que se produce, como fue en Zaragoza-Coahuila, teniendo bajos porcentajes de plántulas normales, debido a un posible desarrollo de latencia durante la embriogénesis y en la maduración de las semillas; causados por los cambios de temperatura ambiental o por la disponibilidad de humedad (Hilhorst, 2011), la primera por el registró de temperaturas dadas en los meses de febrero-marzo del 2017-2018 y la segunda por los tres riegos durante la producción de semillas del estudio. A pesar de la variación en los porcentajes en las líneas de cebada, que fueron por arriba del 95%, son considerados de alta calidad fisiológica para la comercialización según el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de semillas (SNICS, 2003); y de alto vigor, por tener altos valores en las pruebas de clasificación de plántulas: longitud media de radícula y plúmula, así como de peso seco de plántulas (Marcos-Filho, 2015) y que pueden ser un factor determinante en su longevidad durante su almacenamiento (Doria, 2010).

El realizar pruebas de germinación y clasificación de las plántulas después de un proceso de Envejecimiento Acelerado (EA) de las semillas (Matthewes *et al.*, 2012), aportó una mayor información con respecto a la calidad fisiológica de los genotipos (Navarro *et al.*, 2015), ya que este proceso causado por un calor húmedo, propició un mal funcionamiento en el metabolismo de la germinación de los genotipos (Marcos-Filho *et al.*, 2015; González *et al.*, 2014), generando una disminución de las plántulas normales y aumento de las semillas sin germinar; a pesar de ello, se identificaron algunas líneas de cebadas con porcentajes de plántulas normales después del EA

similares al 70 %, y se clasificaron con una calidad de alto nivel de vigor (Mendoza *et al.*, 2011; Popinigis 1985).

### 8.2.2 Selección de progenies en base a rendimiento y calidad de semillas

El análisis de conglomerados permitió identificar a 13 progenies (G9-G20) con los mayores rendimientos de semillas (1.6-1.9 t ha<sup>-1</sup>), valores relativamente diferentes a los reportados en otros estudios, en cebada maltera con 2.1 t ha<sup>-1</sup> en el centro de México (González *et al.*, 2016), y en otras especies con el carácter *stay green*, como sorgo con 2.5 t ha<sup>-1</sup> en Austria (Jordan *et al.*, 2012), y trigo con 600 g m<sup>-2</sup> en Alemania (Kipp *et al.*, 2014), lo que estimula a continuar evaluando la producción de semilla en ciclos futuros o en nuevas localidades de estos ambientes semiáridos para percibir su adaptación de estas nuevas líneas.

Las progenies G2 a la G8 se caracterizaron por contener alta calidad física de semillas en el peso de mil semillas, peso volumétrico y contenido de humedad, superando a su progenitor y a los testigos de otras especies, coincidiendo con otros reportes de cebadas malteras (Armida, Adabella, Esmeralda y Esperanza) en el centro de México (López *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2016; González *et al.*, 2016). Así mismo, todas las progenies se identificaron con alta calidad fisiológica (SNICS, 2003), al presentar altos porcentajes de germinación, superando nuevamente a los testigos del estudio.

La aplicación de pruebas de vigor en la semillas de los genotipos permitió complementar la información sobre el potencial fisiológico y la posible en su selección (Marcos-Filho *et al.*, 2015). Encontrando que las cebadas del estudio se clasificaron de alto vigor por presentar valores altos en las pruebas de clasificación de plántulas, teniendo potencial en la acumulación de biomasa y altura de la planta en campo (Marcos-Filho *et al.*, 2015).

Sin embargo, la avena cv Cuauhtémoc (G21) también se clasificó con nivel alto de vigor, por los valores de plántulas normales después del envejecimiento acelerado (Marcos-Filho *et al.*, 2015), así como las cebadas cv. GABYAN95 y cv. Cerro prieto por la longitud de raíz en la plántula, antes y después del envejecimiento acelerado,

característica sobresaliente por brindar uniformidad y anclaje de la planta en campo (Marcos-Filho *et al.*, 2015).

### 8.2.3 Comparación con otros estudios en el rendimiento y calidad de forraje

Con respecto a la calidad nutritiva de forraje, las progenies estudiadas fueron superiores en el contenido de proteína cruda a lo reportado en otros estudios sobre cebadas forrajeras en el rango de 13.4 a 17.2% (Colín *et al.*, 2009), y en otras cebadas malteras como la variedad Petunia con 17.0 % (Romero *et al.*, 2013) y la variedad Doña Josefa que presentó 17.8% (Aguilar *et al.*, 2013); inclusive a los reportes de cebada en otros países, como Canadá, con un rango de 8.70 a 10.4% (Gill *et al.*, 2013; Geren, 2014).

El obtener mayor contenido de proteína, pudo deberse a la influencia de las características propias de los genotipos y a las condiciones climáticas de las localidades que se dieron en el estudio, como menciona Romero *et al.* (2013).

En algunas progenies y en el testigo cv. Cerro prieto (G22), se obtuvieron los mayores valores de las fibras detergentes ácida y neutra, coincidiendo con otros reportes anteriores de cebadas forrajeras (Colín *et al.*, 2009), mientras que el resto de progenies fueron similares a otros estudios de cebadas forrajeras (Geren, 2014), donde se declararon contenidos adecuados y superiores a las determinaciones realizadas en otros estudios de esta especie (Gill *et al.*, 2013; Romero *et al.*, 2013; Aguilar *et al.*, 2013).

En el total de nutrientes digestibles, los testigos Cerro prieto, GABYAN95, trigo y triticale (G22, G23, G24 y G25) se registraron con valores por debajo a los reportados en otros estudios (Gill *et al.*, 2013; Aguilar *et al.*, 2013).

Sin embargo, en los valores energéticos, en la energía neta de lactancia, tanto los testigos como algunas progenies de cebada, estuvieron dentro del rango reportado en cebadas en nuestro país (Colín *et al.*, 2009), lo cual las hace adecuadas para alimentar vacas lecheras en producción; mientras que en la energía neta de mantenimiento se conservaron ligeramente por debajo de lo reportado en cebadas de dos y seis hileras en Canadá (Gill *et al.*, 2013) registradas entre 1.26-1.40 Mcal kg<sup>-1</sup>, consideradas con una alta proporción de forraje para el ganado de carne de ese país.



#### 8.2.4 Selección de progenies en base a rendimiento y calidad de forraje

El análisis de componentes principales confirmó en el componente principal 1, la presunción en las etapas anteriores con respecto a la precocidad de la cebada en comparación con otros cereales (Romero *et al.*, 2013; Colín *et al.*, 2009) y la relación de la etapa fenológica con la altura de la planta, así como en la temperatura con el rendimiento, mayor cobertura de suelo, contenido de fibras, lo cual conlleva una reducción en la energía neta (ganancia, lactancia y de mantenimiento), proteína cruda, valor relativo de forraje, total de nutrientes digestibles y la digestibilidad de los genotipos similar a otros estudios (Juskiw *et al.*, 2000; Khorasani *et al.*, 1997; Colín *et al.*, 2009), así como una disminución en los litros de leche.

El segundo componente confirmó que en las etapas más juveniles se pueden presentar mayores contenidos de minerales y cenizas (Acosta *et al.*, 1991; Colín *et al.*, 2009), y en este estudio se logró identificar la asociación con mayores valores del índice de vegetación diferencial normalizado. Sin embargo, se desconoce la existencia de algún reporte respecto a esta asociación del índice de verdor y el contenido de minerales, por lo que pudiera ser establecido para futuras investigaciones.

También, el análisis de conglomerados separó a los testigos avena (G21) y trigo (G24) como los de mayor contenido de proteína cruda, energías netas (ganancia, lactancia y de mantenimiento), así como de cenizas, proporcionando un forraje más digestible y con valores altos en el total de nutrientes digestibles, calidad relativa de forraje, valor relativo de forraje y en los litros de leche (Colín *et al.*, 2009). Sin embargo, resultaron de poca altura de la planta, más tardíos (menor etapa fenológica), donde produjeron menor rendimiento de forraje y baja fibra detergente ácida.

En cambio, las progenies G3, G10, G14 y G19 se caracterizaron por tener mayor contenido de fibras, ser más altas y producir mayor cantidad de forraje, confirmando su potencialidad de producción para ambientes semiáridos (Colín *et al.*, 2007; Torres *et al.*, 2019). Además, se reafirmó el carácter *stay green* de las progenies G2, G4, G10, G11, G12, G5 y G18, al tener valores altos en el índice de verdor y contenido de clorofila (Verhulst *et al.*, 2010; Chávez *et al.*, 2017), mayor cobertura de suelo y precocidad (Colín *et al.*, 2007; Torres *et al.*, 2019).

La información de los análisis multivariados, facilitaron la interpretación de las relaciones entre variables y la identificación de genotipos, siendo una herramienta útil para visualizar y agrupar asociaciones entre variables, caracterizar parcialmente a los genotipos y sirvió de base para la selección de los genotipos más sobresalientes.

### 8.3 Etapa 3: Respuesta de los genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno en la expresión del carácter *stay green*, rendimiento y calidad de semilla-forraje

#### 8.3.1 Rendimiento y calidad de forraje (variables agronómicas y de sensores infrarrojos) de genotipos sobresalientes en la adición de nitrógeno

La comparación del progenitor GABYAN95 y la progenie CANI-85 (G12), proporcionó una relevante información sobre los valores agronómicos y calidad de semilla que logran producir con adición de nitrógeno, como el principal nutriente en la producción de cebada (Bergh *et al.*, 2000; Fontanetto *et al.*, 2009 y 2011; Prystupa *et al.*, 2008), además de identificar el efecto de este nutriente en relación a la característica *staygreen*, como ha sido en otros estudios (Gutiérrez *et al.*, 2005), así como reafirmar la superioridad de precocidad de la progenie en comparación a su progenitor (Torres *et al.*, 2019).

La significancia encontrada sugirió que los efectos de las condiciones del clima en las localidades, como el calor, falta de lluvia o salinidad del suelo, consiguieron provocar algún tipo de estrés en las plantas generando cierto grado de clorosis en la interacción (Pask *et al.*, 2012), como ocurrió en Navidad-Nuevo León, igualmente la aplicación de nitrógeno en los materiales estudiados, alcanzó a alterar la actividad fotosintética de las plantas (Hoffman *et al.*, 2016), como lo reflejaron el índice de verdor y el contenido de clorofila, al presentar diferentes respuestas a las diferentes condiciones del ambiente como aseguran algunos autores (Slafer *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 2004; Bastidas *et al.*, 2016).

Los comportamientos de los genotipos a través de los días de muestreo y dosis de nitrógeno aplicadas del estudio, identificaron el tipo de respuesta agronómica que fue similar, positiva y ascendente en la temperatura de dosel, altura de la planta, etapa

fenológica y en el rendimiento de forraje, con los máximos valores a los 105 dds, coincidiendo con otros estudios, con la tendencia de adquirir mayor rendimiento y altura de la planta conforme avanzaron las etapas fenológicas, como fue la variedad Esperanza de cebada maltera (Vera *et al.*, 2002), y en maíz (Mechori *et al.*, 2006).

Los sensores infrarrojos que valoraron el índice de verdor y el contenido de clorofila, permitieron detectar el comportamiento de la actividad fotosintética de los genotipos, captando los máximos valores a los 90 dds, y disminuyendo conforme avanzó el desarrollo de las parcelas, coincidiendo con otras especies como maíz y trigo (Melchori *et al.*, 2006; Slafer *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 2004). Esta actividad, también se evidenció en la altura de la planta, cobertura del suelo y en el mismo rendimiento de forraje, como lo reportaron algunos autores en especies como maíz, trigo y sorgo, donde encontraron una relación del índice de verdor y el Spad (contenido de clorofila) y estos parámetros agronómicos (Raun *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2007; Verhulst *et al.*, 2010; Zajac *et al.*, 2013; Bastidas *et al.*, 2016).

El estudio también confirmó la superioridad de la progenie CANI-85 ante su progenitor GABYAN95, por presentar mayor etapa fenológica y rendimiento de forraje, reafirmando a la progenie como un material precoz y con mayor producción de forraje, características sobresalientes que han sugerido algunos autores para seleccionar nuevas líneas mejoradas (Romero *et al.*, 2013; Colín *et al.*, 2007, 2009; Domínguez *et al.*, 2016). Asimismo, los valores del índice de verdor y el contenido de clorofila, indicaron mayor estabilidad del carácter *stay green*, en la progenie, al incrementar el suministro de nitrógeno, aumentando en la tasa fotosintética conforme avanzó el desarrollo de la planta, como aseguran Gutiérrez *et al.* (2005).

Sin embargo, ambas cebadas tienen tendencias positivas y similares en la altura de la planta, cobertura del suelo y el rendimiento de forraje, a medida que aumenta la adición de nitrógeno, alcanzando los máximos valores a 240 y 300 Kg N ha<sup>-1</sup>, coincidiendo con otros estudios en la producción de cebada, en la dosis de 240 Kg N ha<sup>-1</sup> (Vera *et al.*, 2002; Melchori *et al.*, 2006). En cambio, la respuesta de la etapa fenológica es afectada al aplicar nitrógeno, especialmente en altas dosis (300 Kg N ha<sup>-1</sup>), provocando un crecimiento lento de la planta, según Vera *et al.* (2002), ya que el tiempo de aplicación de nitrógeno total en cebada debe ser a los 46 dds, y en este estudio se

realizó a los 30 dds, lo que pudo contribuir a la poca respuesta de los genotipos en la adición nitrógeno.

### 8.3.2 El carácter *stay green* en la adición de nitrógeno

Las ecuaciones de regresión de tipo cuadráticas, permitieron establecer una mayor explicación del comportamiento de las cebadas forrajeras, identificando el mejor tiempo de aplicación y dosis de nitrógeno, para obtener mayores rendimientos ya sea de forraje o semilla (Vera *et al.*, 2002; Slafer *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 2005). En las cebadas forrajeras como GABYAN95 y CANI-85 a etapas fenológicas de 90 dds, tienen una mayor respuesta del índice de verdor, cuando se aplican mayores dosis de nitrógeno como lo han encontrado en variedades de cebada de invierno (Miroslavljević *et al.*, 2020). Sin embargo, al aplicar altas dosis puede llegar a demorar la senescencia, como ha sido otros estudios en trigo (Martre *et al.*, 2006; Alhabbar *et al.*, 2018), lo que hace más evidente la carácter de *stay green* en estas cebadas.

Así mismo, la respuesta del contenido de clorofila, reafirmó esta aseveración por aumentar su valor conforme aumentó la dosis, logrando mantenerse en varios días durante el desarrollo de la planta, efecto que también se encontró en cultivos como arroz, sorgo, maíz y trigo con carácter *stay green* (Raun *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2007; Verhulst *et al.*, 2010; Zajac *et al.*, 2013; Bastidas *et al.*, 2016). Esta respuesta, también percibe la constitución genética del genotipo, dependiendo del interés o propósito (fisiólogos y fitomejoradores) en que se estudia (Gutiérrez *et al.*, 2005), adquiriendo información sobre el estado nutricional de nitrógeno en las cebadas a través de esta tecnología infrarroja, teniendo una relación entre sus características agronómicas (altura de planta, cobertura de suelo y el rendimiento de forraje) con el contenido de clorofila de las hojas como afirman algunos autores (Piekielek y Fox, 1992; Jemison y Lytle, 1996), además, de poder confirmar el tipo de carácter funcional del *stay green* en estos genotipos (Thomas y Howarth, 2000).

El coeficiente de determinación, indicó que la adición de nitrógeno no es el único factor que intervino en el índice de verdor y el contenido de clorofila en la producción de cebada, entre ellos, el contenido total de materia orgánica del suelo (Grageda *et al.*,

2000), que es poco probable su efecto en las cebadas por ser capaces de adaptarse a suelos marginales (Colín *et al.*, 2009); otro factor, el régimen de abastecimiento de agua (Clarke *et al.*, 1990), que es una de las limitaciones que intervinieron, por tener un número reducido de riegos; sin embargo, el carácter *stay green* no tiene cambios estas limitaciones (Christopher *et al.*, 2014).

Un último factor y con mayor posibilidad de caracterizar la respuesta de las cebadas forrajeras del estudio, es el momento de la aplicación de nitrógeno, pues depende del propósito por el cual se adiciona, por ejemplo, si se requiere incrementar desarrollo de la planta (crecimiento vegetativo o altura de planta), es recomendable aplicar el nitrógeno en etapas tempranas, efecto que se evidenció en el estudio; pero si se requiere un mayor llenado de grano (producción de semilla), se debe aumentar la dosis de nitrógeno en etapas un poco más tardías (Carreck y Christian, 1991), efecto que resultaría interesante evaluar en estos genotipos, ya que la adición de nitrógeno fue al inicio del cultivo y a los 30 días después de la siembra.

La superficie de respuesta del índice de verdor reconoció el tiempo y dosis de fertilización convenientes en obtener una mayor respuesta en la producción (Yong *et al.*, 2018), precisando que ambas cebadas, a partir de los 70-75 días de después de la siembra, se necesita una dosis de 150 Kg Nha<sup>-1</sup>, para obtener altos valores en el índice de verdor, que su vez, puede reflejarse con mayor rendimiento de forraje (Raun *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2007; Verhulst *et al.*, 2010; Bastidas *et al.*, 2016).

El desear mantener los niveles elevados de verdor hasta los 90 dds, como requieren el corte de forraje en las industrias lecheras (Colín *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2019), es necesario aplicar mayores dosis (200 kgN ha<sup>-1</sup>), que diferencia de otros estudios, para la producción de grano aplicaron 180 Kg N ha<sup>-1</sup> a los 66 dds, (Vera *et al.*, 2002; Melchori *et al.*, 2006), y en otras variedades de cebada, aplicaron menos (46 Kg Nha<sup>-1</sup>), por la disponibilidad de materia orgánica en el Valle de México (Zamora *et al.*, 2017).

Si se necesitará hacer más eficiente la actividad fotosintética de la cebada forrajera con carácter *stay green*, como GABYAN95 se requieren una dosis de 100 Kg Nha<sup>-1</sup>, a partir de los 70-75 dds, y en CANI-95 de 300 Kg N ha<sup>-1</sup> a los 75 dds, para llegar a mantener el contenido de clorofila alto hasta los 90 dds en que se realiza el corte de

forraje en las industrias lecheras (Colín *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2019). El asegurar el potencial de fotosíntesis en la planta y obtener mayor rendimiento de forraje, sin lugar a dudas, también elevaría la producción de semilla o grano (Lopes y Reynolds, 2012; Babar *et al.*, 2002), siendo un poco mayor al utilizado en cebadas malteras del centro de México, para producir grano (Pérez *et al.*, 2016; Zamora *et al.*, 2010).

Cabe señalar que el presente estudio es pionero en el efecto del nitrógeno sobre la producción de forraje, ya que la mayoría de los reportes se enfocan en la producción de grano.

### 8.3.3 Rendimiento y calidad de semilla de genotipos sobresalientes por la adición de nitrógeno

Como se ha venido señalando, las condiciones ambientales fueron un factor importante en la producción de semilla (Beltrán *et al.*, 2011; Santibañez *et al.*, 1994), Prystupa *et al.*, 2008), encontrando una respuesta particular de cada genotipo, debido precisamente a su composición genética, adaptación y necesidad de factores como disponibilidad hídrica, materia orgánica, entre otros (Grageda *et al.*, 2000; Clarke *et al.*, 1990; Carreck y Christian, 1991), además, combinando el tiempo y dosis en la aplicación de nitrógeno (Bergh *et al.*, 2000; Fontanetto *et al.*, 2009 y 2011), y aunado el nivel del carácter *stay green* de cada genotipo en la producción de semillas (Núñez *et al.*, 2001; Melchiori, 2006), se encontró que para producir altos rendimientos son apropiadas las condiciones de Zaragoza-Coahuila, pero para obtener semillas de alta calidad es mejor Navidad-Nuevo León.

Sin embargo, la dosis de nitrógeno fue el factor más importante en el rendimiento de semilla dependiendo de la localidad, en Navidad-Nuevo León, la progenie CANI-85 obtuvo el mayor rendimiento, a partir de una dosis de 180 Kg N ha<sup>-1</sup>, mientras que en Zaragoza-Coahuila fue a 120 Kg N ha<sup>-1</sup>, coincidiendo con otros estudios, en cebada cv Esperanza, con 180 Kg N ha<sup>-1</sup> en la producción de grano (Vera *et al.*, 2002). Esta línea, tiene el potencial para la agroindustria, como semilla mejorada y de alta calidad (Luna *et al.*, 2012; Arenas *et al.*, 2015), además de superar a su progenitor GABYAN95 en la calidad de semilla.

En la línea CANI-85, se encontró que la mejor condición para obtener semilla de alta calidad fue Zaragoza-Coahuila, a partir de una dosis de 120 Kg N ha<sup>-1</sup>, con altos valores de peso de mil semillas y peso volumétrico, valores que resultaron superiores a otros reportes de cebadas producidas en el centro de México (40.0 g en PMS y 58.0 Kg HI<sup>-1</sup> en PV) (López *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2016; González *et al.*, 2016). Y con alto porcentaje en la capacidad de germinación, y en el vigor (peso seco de plántula) a esta misma dosis (120 KgN ha<sup>-1</sup>), siendo dosis más recomendada en otras variedades de cebada y especies en el Centro de México (Castañeda *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2016; Zamora *et al.*, 2017), además de reafirmar el potencial de esta línea, en la acumulación de biomasa y altura de la planta en campo reflejadas en las pruebas de vigor (longitud media de plúmula, radícula y el peso seco) en el laboratorio (Marcos-Filho *et al.*, 2015).

Se confirmó mediante las ecuaciones de regresión, en Navidad-Nuevo León, las respuestas de ambos genotipos en la producción de semillas, señalando que existieron otros factores que obstruyeron en el rendimiento y calidad de las semillas (Grageda *et al.*, 2000; Clarke *et al.*, 1990; Carreck y Christian, 1991), identificando como un efecto importante la adición de nitrógeno (Bergh *et al.*, 2000; Fontanetto *et al.*, 2009 y 2011; Prystupa *et al.*, 2008), sobre todo por el momento y dosis adecuado de aplicación en la obtención de mayor peso de la semilla (Vera *et al.*, 2002; Melchori *et al.*, 2006). Y en Zaragoza-Coahuila, el factor de variación de temperaturas, tuvo un afecto el llenado de del grano, causando bajo peso de semillas (Pérez *et al.*, 2016) y en la germinación, causando latencia (Buraas y Skinnes, 1984; Strand, 1989).

El precisar las dosis de nitrógeno para la producción de semillas en cebadas forrajeras *stay green* mediante las ecuaciones de segunda derivadas para parámetros de calidad de importancia comercial (SNICS, 2019), permitió establecer los niveles máximos y mínimos, sin dejar de considerar las condiciones ambientales, que son parte esencial en la toma de decisión sobre las dosis de aplicación de nitrógeno. En Navidad- Nuevo León, a una dosis baja entre 0-60 Kg N ha<sup>-1</sup>, GABYAN95 logrará obtener mayores rendimientos de semilla y vigor con mayor longitud radicular, mientras que CANI-85 con alto vigor en longitud de plántula y acumulación de peso. Así, a una dosis mayor, GABYAN95 obtendrá un mejor llenado y peso de semilla, y CANI-85 aumentará la densidad de semilla debido precisamente al aumento de peso.

En Zaragoza-Coahuila con dosis bajas de fertilización (0-60 Kg N ha<sup>-1</sup>), se obtendrá en GABYAN95 un alto vigor en la acumulación de peso seco de la plántula y CANI-85 una alta germinación de plántulas normales y alto vigor de longitud de plúmula, difiriendo completamente con variedades de cebada maltera y forraje-grano del centro de México, que recomiendan dosis por arriba de 120 Kg N ha<sup>-1</sup> (Vera *et al.*, 2002; Zamora *et al.*, 2017).

#### 8. 4 Etapa 4. Genotipificación de progenies sobresalientes y progenitores de cebada

La información generada por los microarreglos en la genotipificación identificó miles de polimorfismos de tipo SNP o InDels (Alsop *et al.*, 2011; Wenzi *et al.*, 2004), y en combinación con la plataforma DArTseq<sup>TM</sup>. El analizar los genomas de las cebadas, se llegó a descubrir un gran número de marcadores o secuencias de alelos de interés a través de enzimas de restricción y secuenciación de los fragmentos de restricción de ADN (Alsop *et al.*, 2011; Alam *et al.*, 2018; Bleidorn, 2017), además se encontró que a través del análisis multivariado, se detectaron diferencias entre las progenies y los progenitores por secuencias clasificadas como homocigotas dominantes, recesivas y heterocigotas por tener similitud en la distancia de ligamiento (Wenzi *et al.*, 2004).

Se identificaron las frecuencias alelicas de ADN homocigota-dominantes de la gran mayoría de las progenies y el progenitor GABYAN95, coincidiendo con algunos autores al mencionar que la herencia de los cloroplastos es dada por el progenitor hembra (Mogensen, 1996), y sobre todo por encontrarse en los cromosomas 3H, 4H y 6H que están involucrados con actividades fotosintéticas (Wójcik *et al.*, 2017).

Así, identificados los SNPs en base al principio de la lectura de microsatélites (SSR) o los ADN-AFLP, a través de colores (Ramírez-Salcedo *et al.*, 2003), se diferenciaron las progenies de sus progenitores (GABYAN95 y Esperanza), así como de la cebada maltera cv. Cerro prieto, a través de las secuencias en homocigoto-dominante “0” en color verde, homocigoto-recesivo “1” en naranja y heterocigoto “2” en color rojo en el estudio, permitiendo identificar la variabilidad genética entre los genotipos, siendo una herramienta muy útil en futuros estudios de biodiversidad genética, filogenómicos, código de barras de ADN entre otros (Bleidorn, 2017) y ahora en la especie de cebada.



El análisis de alineamiento en pares de secuencias, apoyó en la identificación de secuencias de alelos dominantes (SNPs) de los cromosomas 2H, 3H, 4H, 5H, 6H y de SNPs que no lograron ser identificados en algún cromosoma (ChrUn), con alta similitud en los nucleótidos que constituyen las biomoléculas: ATPsintasa, citocromo b6f, fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), la ribulosa 1-5 bisfosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco), la protoclorofilido oxido reductasa A y B (PORA y PORB), el ácido abscísico (ABA), la proteína Ycf3, que participa activamente en el proceso de fotosíntesis de la planta en *Hordeum vulgare* (Schulz *et al.*, 1989; Baumgartner, *et al.*, 1989; Cuello *et al.*, 1987; Cai *et al.*, 2013; Harrison *et al.*, 1993; Horlitorf *et al.*, 1995; Miersh *et al.*, 2000; Saski *et al.*, 2007; Scott *et al.*, 1994; Zeng *et al.*, 2015), como han sido identificadas otras moléculas o expresiones en otros estudios, al detectar fragmentos de ADN con expresión diferencial con proteínas tipo kinasas, lipoxigenasa y ricas en glutamato en el cultivo de papa (Tian *et al.*, 2003); o en otro estudio, donde la expresión depende del tipo de gen, para dar la formación de meristemas ya sea florales o vegetativos, además de considerar las condiciones del ambiente (Tooke *et al.*, 2005).

Se verificó que los SNPs homocigoto-dominantes identificados en un cromosoma en específico por el Dartseq, coincidió en su mayoría con la asociación de los cromosomas 2H, 3H y 5H con algunos parámetros del proceso de fotosíntesis con otros estudios realizados en cebada (Guo *et al.*, 2007; Wójcik *et al.*, 2017), y sin duda, se continuará con el análisis de alineamientos con estos SNPs dominantes y otras biomoléculas relacionadas con resistencia a salinidad, tolerancia a sequía, o la resistencia de enfermedades comunes en el Noreste de México, y sobre todo en los campos experimentales en donde se llevó a cabo el estudio.

Por el alto porcentaje de coincidencia, en un número de nucleótidos de secuencias homocigoto-dominantes (SNPs) con la ATPsintasa, las progenies tiene una característica dominante en la actividad fotosintética en los cloroplastos, ya que la ATPsintasa, es el componente clave del canal de protones, al desempeñar la función directa en la translocación de protones a través de la membrana del cloroplasto, sirve para impulsar la reacción de ATPasa en la síntesis de ATP (Saski *et al.*, 2007); y en ocasiones la regulación de ATPsintasas representa un mecanismo para la adaptación de la planta a cambios ambientales como transiciones de luz oscura, anoxia en las raíces y

fluctuaciones en el suministro de nutrientes (Bunney *et al.*, 2001). El tener una alta coincidencia en el alineamiento entre las progenies y la secuencia de la proteína Ycf3, se puede confirmar la alta actividad fotosintética de las cebadas forrajeras, ya que esta proteína también está asociada con una membrana extrínseca de tilacoides polipéptidos necesarios para la acumulación del fotosistema I (PSI), y su función igual que las ATPsintasas depende de la intensidad de luz, si se tuviera la ausencia de Ycf3 afectaría la expresión de genes del PSI del proceso de fotosíntesis (Boudreau *et al.*, 1997; Nellaepalli *et al.*, 2018).

Otra biomolécula importante en la fotosíntesis, es el citocromo b6f, complejo que regula la transferencia de electrones entre el fotosistema II (PSII) y el fotosistema I (PSI), como NADH y FADH<sub>2</sub>, con un flujo de electrones cíclico alrededor del PSI y las transiciones de estado en el proceso de fotosíntesis (Manrique, 2003), actividades que se realizan muy probablemente en los cloroplastos de las progenies de cebada del estudio, ya que se encontraron en altos porcentajes de coincidencia entre algunos SNPs y la secuencia de esta biomolécula.

En el alineamiento de nucleótidos entre los SPNs de las progenies y la secuencia del Fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK) (Spanu *et al.*, 2010), obtuvo un alta coincidencia entre ambas secuencias, lo que sugiere que la función de esta biomolécula, de coordinar la intensidad de la luz y la concentración de CO<sub>2</sub> durante la fotosíntesis en las hojas (Bailey *et al.*, 2007; Leegood and Walker, 2002), además de tener una correlación con la fosforilación, la activación y la tasa de fotosíntesis en la fijación de CO<sub>2</sub> en la planta, sean evidentemente actividades dominantes en los genotipos del estudio, ya que coincide en otro estudio en pasto Guinea por estar presente, y posiblemente en la actividad que desempeña y su relación a los cambios de luz y CO<sub>2</sub>, (Bailey *et al.*, 2007), factores que no fueron considerados en este estudio y pudieran contemplarse en estudios futuros.

El reconocer que la Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) es una abundante biomolécula en las plantas verdes (Buchanan *et al.*, 2000), era importante identificar su existencia dentro de las secuencias dominantes de las progenies o el progenitor GABYAN95, y al realizar el alineamiento de secuencias y como era de esperarse, se confirmó el alto porcentaje de similitud entre algunos pares de secuencias,

debido a que como especie *Hordeum vulgare*, tiene un alto contenido de células mesofílicas con alta cantidad de cloroplastos con proteínas que están involucradas en la transcripción, traducción y fotosíntesis como menciona Baumgarther *et al.* (1989). Así mismo, por la alta coincidencia encontrada entre las secuencias de SNPs de las progenies de cebada y las secuencias de biomoléculas sensibles a la luz como son el protoclorofilido oxidoreductasa A y B (PORA; PORB), se sugiere que estas moléculas son esenciales en la actividad biológica de la planta de la especie de cebada, pues en otro estudio, determinaron la presencia y desempeño de estas enzimas en *Hordeum vulgare*, identificando la expresión de sus genes durante la intensidad de luz de las plantas verdes, y el contenido de ambas enzimas generando un aumento en el metabolismo de la planta (Holtorf *et al.*, 1995).

Así mismo, se encontró un alto porcentaje de similitud en el alineamiento entre los SNPs de las progenies y la secuencia de la hormona ácido abscísico (ABA), lo que reafirma la existencia de un retardo en la senescencia de las hojas tanto de las progenies como del progenitor, ya que esta hormona es en parte la causante de la síntesis de proteínas de cloroplastos, puede provocar retardo en la senescencia, cambios en la retención de clorofila y aumenta cuando hay mayor incidencia de luz (Cuello *et al.*, 1987).

Otras biomoléculas de gran interés en el estudio fueron la proteína *stay green* inducible a la senescencia a nivel cloroplasto, y el gen de la proteína de *stay green* (SGR), ambas moléculas se identificaron en los SNPs resultantes del secuenciador, con un alto porcentaje de coincidencia en un gran número de alelos homocigoto-dominantes de las progenies y el progenitor GABYAN95, teniendo la evidencia genética con mayor certeza, considerando a los SNPs como marcadores moleculares, coincidir con la secuencia o formar parte de la secuencia como tal, revelando de esta manera la presencia del gen SGR o que codifica a la proteína de *stay green*, como sea encontrado en otros estudios de diferentes especies como *Arabidopsis thaliana*, arroz, *Medicago m. truncatula*, y que han identificado a la proteína *stay green* y al gen SGR (Cha *et al.*, 2002; Ren *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2011).

## IX. CONCLUSIONES

Las progenies de cebada forrajera imberbe tienen estabilidad en el carácter *stay green* detectada a través de la tecnología infrarroja.

En estas progenies, el índice de contenido de clorofila se asoció a la densidad y longitud estomática de las hojas. Los cambios de tamaño en el ancho de los estomas en el haz, al parecer se vio afectada por la temperatura de la hoja, mientras que los estomas de la superficie del envés fueron poco reactivos a los cambios de temperatura.

El carácter *stay green* se manifiesta de forma acentuada en las progenies de cebada forrajera imberbe CANI-15, CANI-85, CANI-99 y CANI-128 hasta después de los 120 días después de la siembra, ubicados en los Grupos 6 y 7 detectados por el análisis de conglomerados.

Para la agroindustria lechera en su requerimiento de forraje, los Grupos 6 y 7 de las progenies de cebada forrajera imberbe, en particular CANI-9, CANI-10, CANI-15, CANI-85, CANI-99 son convenientes a los 90 días después de la siembra, aportando mayor altura de la planta, rendimiento de forraje, actividad fotosintética y resistencia estomática en comparación de otras especies como avena, trigo y triticale.

En base al rendimiento y calidad de semillas, las progenies de cebada quienes formaron el Grupo 1 y 3 produjeron más y con mayor calidad en comparación a otras especies (avena cv Cuauhtémoc, trigo AN-266-99 y triticale cv Eronga-83), sobresaliendo entre ellas CANI-80, CANI-85, CANI-99, CANI-103, CANI-104, CANI-G108, CANI-128 y CANI-131, por su alta calidad fisiológica en la capacidad de germinación, y el vigor a través de las pruebas de clasificación de plántulas LMP, LMR y PS.

Las progenies CANI-1, CANI-9 y CANI-10 por su alto vigor después de un envejecimiento de la semilla, son progenies potenciales para un registro como nuevas variedades.

Por su producción y la calidad nutritiva de forraje CANI-1, CANI-15, CANI-82, CANI-85, CANI-104, CANI-128, constituyen una buena opción para los productores lecheros. En estas progenies, los mayores rendimientos de forraje se asociaron positivamente con altura de planta, cobertura de suelo, índice de vegetación diferencial normalizado e índice de contenido de clorofila, así como mayor precocidad, alta proteína cruda, total de nutrientes digestibles, valor nutritivo de forraje y baja fibra detergente ácida.

Se detectó una respuesta de tipo cuadrática a la adición de nitrógeno en el índice de verdor, contenido de clorofila y etapa fenológica en GABYAN95 y CANI-85. Sin embargo, por los coeficientes de determinación bajos, se recomienda realizar mayores estudios.

En condiciones semiáridas, el progenitor GABYAN95 y CANI-85 a 70-75 días después de la siembra, requieren dosis de al menos 150 Kg Nha<sup>-1</sup> para obtener valores altos de índice de verdor y rendimiento de forraje.

GABYAN95 requiere una dosis de 0-60 Kg Nha<sup>-1</sup> y CANI-85 una de 120 Kg Nha<sup>-1</sup> para producir altos rendimientos y calidad de la semilla; Zaragoza, Coahuila fue la mejor localidad para la producción de semilla.

Las diferentes relaciones detectadas a través de los análisis de regresión y superficie de respuesta son herramientas que facilitan la predicción del rendimiento de forraje, el índice de verdor y el contenido de clorofila, en base a las dosis de nitrógeno.

La información generada de los microarreglos dados por SNPs y el uso de plataformas como DArTseq<sup>TM</sup> son útiles en la genotipificación de los progenitores y progenies de cebada forraje, por detectar diferencias en secuencias homocigotas dominantes, recesivas y heterocigotas al tener similitudes por la distancia de ligamiento.

Existe similitud entre progenies y el progenitor GABYAN95 debido a la dominancia en los alelos localizados en los cromosoma 2H, 3H, 4H y 5H, que están relacionados en la actividad fotosintética y con el carácter *stay green*.

Se detectó un alto porcentaje de coincidencia en las secuencias de más 12 nucleótidos de biomoléculas como: fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), protoclorofilido oxido reductasa A y B (PORA y PORB), ácido abscísico (ABA), proteína *stay green* inducible a la senescencia en cloroplasto y el gen *stay green* SGR en el progenitor y sus progenies.

## X. ANEXOS

```
Alignments:
>100344712-4H
Sequence ID: Query_40880 Length: 69
Range 1: 34 to 51
Score:24.7 bits(26), Expect:0.19,
Identities:16/18(89%), Gaps:0/18(0%), Strand: Plus/Minus
Query 233 TCATCCGGGACCTCTCCA 250
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 51 TCATCCGGGACGCTCCA 34

>100286471-5H
Sequence ID: Query_40971 Length: 69
Range 1: 12 to 22
Score:21.1 bits(22), Expect:2.3,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 702 CGCCGCCGCT 712
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 12 CGCCGCCGCT 22

>100286473-3H
Sequence ID: Query_40868 Length: 69
Range 1: 54 to 68
Score:23.8 bits(25), Expect:0.65,
Identities:14/15(93%), Gaps:0/15(0%), Strand: Plus/Plus
Query 568 CTCTTCGGCAACATC 582
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 54 CTGTTCCGGCAACATC 68

>100284868-2H
Sequence ID: Query_40905 Length: 69
Range 1: 55 to 65
Score:21.1 bits(22), Expect:2.3,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 546 GCCGCTCTCCC 556
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 55 GCCGCTCTCCC 65

>100327445-5H
Sequence ID: Query_40934 Length: 69
Range 1: 29 to 42
Score:22.0 bits(23), Expect:2.3,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 357 CATCGAGCTCCCGC 370
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 29 CACCGAGCTCCCGC 42

>100348533-3H
Sequence ID: Query_40883 Length: 69
Range 1: 13 to 23
Score:21.1 bits(22), Expect:2.3,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 119 TCATCACCTCC 129
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 23 TCATCACCTCC 13
```

### Anexo 1. Complemento de resultados de alineamiento en pares de ATPsintasa y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```
Alignments:
>100345721-3H
Sequence ID: Query_58516 Length: 69
Range 1: 28 to 69
Score:24.7 bits(26), Expect:0.18,
Identities:34/44(77%), Gaps:3/44(6%), Strand: Plus/Minus
Query 604 TTCTACTCCCTCCACACCTTCGTGCTCCC-GCTCCTCACCGCCG 646
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 69 TTCTTCTCC-TCCACACC-TAGCCACCTGCTCCTCTCGGCCG 28

>100283224-3H
Sequence ID: Query_58498 Length: 69
Range 1: 22 to 35
Score:22.0 bits(23), Expect:2.1,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus
Query 320 GGTCCGCCTCCATG 333
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 35 GGGCCGCCTCCATG 22

>100345720-3H
Sequence ID: Query_58515 Length: 69
Range 1: 28 to 69
Score:24.7 bits(26), Expect:0.18,
Identities:34/44(77%), Gaps:3/44(6%), Strand: Plus/Minus
Query 604 TTCTACTCCCTCCACACCTTCGTGCTCCC-GCTCCTCACCGCCG 646
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 69 TTCTTCTCC-TCCACACC-TAGCCACCTGCTCCTCTCGGCCG 28

>100213818-2H
Sequence ID: Query_58549 Length: 69
Range 1: 8 to 18
Score:21.1 bits(22), Expect:2.1,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 591 CACCCTCACCC 601
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 18 CACCCTCACCC 8

>100350691-3H
Sequence ID: Query_58518 Length: 69
Range 1: 45 to 56
Score:22.9 bits(24), Expect:0.61,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus
Query 79 TTCGAGGAGCGC 90
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 45 TTCGAGGAGCGC 56

>100348533-3H
Sequence ID: Query_58517 Length: 69
Range 1: 12 to 22
Score:21.1 bits(22), Expect:2.1,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 117 CATCACCTCCA 127
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 22 CATCACCTCCA 12

>100312600-4H
Sequence ID: Query_58504 Length: 69
Range 1: 8 to 19
Score:22.9 bits(24), Expect:0.61,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 104 CCATCGCCGACG 115
          ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 10 CCATCGCCGACG 0

>100218544-4H
Sequence ID: Query_58486 Length: 69
Range 1: 19 to 29
Score:21.1 bits(22), Expect:2.1,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 251 CCTTCTCTCC 261
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 29 CCTTCTCTCC 19
```

### Anexo 2. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Citocromo b6f y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100328896-6H
Sequence ID: Query_63213 Length: 69
Range 1: 54 to 68
Score:28.3 bits(30), Expect:0.040,
Identities:15/15(100%), Gaps:0/15(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1468 TTCACCTTCATCTCC 1482
Sbjct 68 TTCACCTTCATCTCC 54

>100327484-3H
Sequence ID: Query_63211 Length: 69
Range 1: 31 to 48
Score:27.4 bits(29), Expect:0.14,
Identities:18/19(95%), Gaps:1/19(5%), Strand: Plus/Minus
Query 1432 CCGCCGATCTCCAAGCTCA 1450
Sbjct 48 CCGCC-ATCTCCAAGCTCA 31

>100286688-5H
Sequence ID: Query_63277 Length: 69
Range 1: 35 to 47
Score:24.7 bits(26), Expect:0.49,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1014 CCTCCACTCCTCC 1026
Sbjct 47 CCTCCACTCCTCC 35

>100339331-6H
Sequence ID: Query_63215 Length: 69
Range 1: 32 to 46
Score:23.8 bits(25), Expect:1.7,
Identities:14/15(93%), Gaps:0/15(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1051 GTGACCTCTTCTTC 1065
Sbjct 46 GTGACCTCTTCTTC 32

>100346402-5H
Sequence ID: Query_63282 Length: 69
Range 1: 9 to 25
Score:22.9 bits(24), Expect:1.7,
Identities:15/17(88%), Gaps:0/17(0%), Strand: Plus/Plus
Query 744 CCGCGCTACCACGCC 760
Sbjct 9 CCGCTACTACCACGCC 25

>100344765-5H
Sequence ID: Query_63294 Length: 69
Range 1: 27 to 37
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 972 CATCTCTTCT 982
Sbjct 37 CATCTCTTCT 27

>100218345-2H
Sequence ID: Query_63254 Length: 69
Range 1: 2 to 12
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1790 CGACCTCCTGC 1800
Sbjct 12 CGACCTCCTGC 2

>100222908-2H
Sequence ID: Query_63240 Length: 69
Range 1: 4 to 14
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1868 AGGAGGTGCC 1878
Sbjct 4 AGGAGGTGCC 14

>100281861-5H
Sequence ID: Query_63260 Length: 69
Range 1: 48 to 59
Score:22.9 bits(24), Expect:1.7,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1663 GCCGCCGCCACC 1674
Sbjct 48 GCCGCCGCCACC 59

>100344712-4H
Sequence ID: Query_63216 Length: 69
Range 1: 35 to 51
Score:22.9 bits(24), Expect:1.7,
Identities:15/17(88%), Gaps:0/17(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1406 TCACCTCGACGCTCC 1422
Sbjct 51 TCATCCGCGACGCTCC 35

>100220373-2H
Sequence ID: Query_63245 Length: 69
Range 1: 4 to 17
Score:22.0 bits(23), Expect:6.0,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1167 CGAGGGCGGCTGCT 1180
Sbjct 17 CGTGGCGGCTGCT 4

>100221880-2H
Sequence ID: Query_63229 Length: 69
Range 1: 4 to 17
Score:22.0 bits(23), Expect:6.0,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1167 CGAGGGCGGCTGCT 1180
Sbjct 17 CGTGGCGGCTGCT 4

>100224391-2H
Sequence ID: Query_63227 Length: 69
Range 1: 42 to 55
Score:22.0 bits(23), Expect:6.0,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1121 TCGGCGACGAG 1134
Sbjct 42 TCGGCGACGAG 47

>100348533-3H
Sequence ID: Query_63219 Length: 69
Range 1: 12 to 22
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 483 CATCACCTCCA 493
Sbjct 22 CATCACCTCCA 12

>100283622-Un
Sequence ID: Query_63201 Length: 69
Range 1: 37 to 47
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1584 GCGCTACGCCG 1594
Sbjct 47 GCGCTACGCCG 37

>100254958-3H
Sequence ID: Query_63196 Length: 69
Range 1: 45 to 55
Score:21.1 bits(22), Expect:6.0,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 387 CAACGCCACA 397
Sbjct 55 CAACGCCACA 45

```

Anexo 3. Complemento de resultados de alineamiento en pares de fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq



```

Alignments:
>100216585-5H
Sequence ID: Query_32447 Length: 69
Range 1: 1 to 14

Score:26.5 bits(28), Expect:0.039,
Identities:14/14(100%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus

Query 483 GCTCCTCGGCTGCA 496
          |||
Sbjct 14  GCTCCTCGGCTGCA 1

>100216585-5H
Sequence ID: Query_32445 Length: 69
Range 1: 1 to 14

Score:26.5 bits(28), Expect:0.039,
Identities:14/14(100%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus

Query 483 GCTCCTCGGCTGCA 496
          |||
Sbjct 14  GCTCCTCGGCTGCA 1

>100282397-4H
Sequence ID: Query_32333 Length: 69
Range 1: 19 to 30

Score:22.9 bits(24), Expect:0.48,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus

Query 267 GTGGATCTGCTA 278
          |||
Sbjct 30  GTGGATCTGCTA 19

>100353580-Un
Sequence ID: Query_32357 Length: 69
Range 1: 50 to 68

Score:26.5 bits(28), Expect:0.039,
Identities:17/19(89%), Gaps:0/19(0%), Strand: Plus/Minus

Query 367 CTCGCGCCTCCGCTCG 385
          |||
Sbjct 68  CTCGCGCCTCCGCTCG 50

>100313468-5H
Sequence ID: Query_32438 Length: 69
Range 1: 23 to 33

Score:21.1 bits(22), Expect:1.7,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus

Query 168 CGGCACCTGGA 178
          |||
Sbjct 33  CGGCACCTGGA 23

```

Anexo 4. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ribulosa bifosfato carboxilasa (Rubisco) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100218544-4H
Sequence ID: Query_21388 Length: 69
Range 1: 12 to 25

Score:26.5 bits(28), Expect:0.083,
Identities:14/14(100%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus

Query 13 CTCCTCCCGTCCAC 26
          |||
Sbjct 25 CTCCTCCCGTCCAC 12

>100219863-2H
Sequence ID: Query_21450 Length: 69
Range 1: 25 to 36

Score:22.9 bits(24), Expect:1.0,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus

Query 338 CCAAGGCCGCCA 349
          |||
Sbjct 25  CCAAGGCCGCCA 36

Range 2: 18 to 35
Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,
Identities:16/18(89%), Gaps:0/18(0%), Strand: Plus/Minus

Query 857 GCATCACCTTCTCTCCC 874
          |||
Sbjct 35  GCAACCCCTTCTCTCCC 18

Range 2: 25 to 38
Score:22.0 bits(23), Expect:3.5,
Identities:12/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus

Query 347 CCAAGGCCCGCGC 360
          |||
Sbjct 25  CCAAGGCCCGCAGC 38

>100288497-2H
Sequence ID: Query_21443 Length: 69
Range 1: 41 to 53

Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus

Query 84 CGCCTTCTCTGGC 96
          |||
Sbjct 41 CGCCTTCTCTGGC 53

>100345720-3H
Sequence ID: Query_21417 Length: 69
Range 1: 19 to 30

Score:22.9 bits(24), Expect:1.0,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus

Query 149 CGGCCCGTCCC 160
          |||
Sbjct 30  CGGCCCGTCCC 19

>100313765-3H
Sequence ID: Query_21408 Length: 69
Range 1: 28 to 40

Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus

Query 525 CGGCCACGAGATG 537
          |||
Sbjct 28  CGGCCACGAGATG 40

Range 2: 12 to 26
Score:22.0 bits(23), Expect:3.5,
Identities:15/16(94%), Gaps:1/16(6%), Strand: Plus/Minus

Query 612 CCCGTCGCCCATG 627
          |||
Sbjct 26  CCCGTCGCC-CATG 12

>100217796-Un
Sequence ID: Query_21385 Length: 69
Range 1: 18 to 30

Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus

Query 75 GGACACCGCCGCC 87
          |||
Sbjct 14  GGACACCGCCGCC 25

>100283217-3H
Sequence ID: Query_21399 Length: 69
Range 1: 14 to 25

Score:22.9 bits(24), Expect:1.0,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus

Query 209 AGACCTCCGCC 220
          |||
Sbjct 14  AGACCTCCGCC 25

```

```

>100362495-3H
Sequence ID: Query_21424 Length: 69
Range 1: 53 to 63

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 185 CCGCCTCCTCC 195
          |||
Sbjct 53  CCGCCTCCTCC 63

Range 2: 54 to 64

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 243 CGCCTCTCCG 253
          |||
Sbjct 54  CGCCTCTCCG 64

>100313839-4H
Sequence ID: Query_21409 Length: 69
Range 1: 43 to 53

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus

Query 107 AGGCCAAGAAG 117
          |||
Sbjct 53  AGGCCAAGAAG 43

>100312083-6H
Sequence ID: Query_21405 Length: 69
Range 1: 39 to 49

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 579 CCTCCTCATGG 589
          |||
Sbjct 39  CCTCCTCATGG 49

>100218478-Un
Sequence ID: Query_21387 Length: 69
Range 1: 42 to 52

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 1069 TCCGCCTCCTT 1079
          |||
Sbjct 42  TCCGCCTCCTT 52

>100286688-5H
Sequence ID: Query_21477 Length: 69
Range 1: 43 to 56

Score:22.0 bits(23), Expect:3.5,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Minus

Query 179 GCTCCACCGCCTCC 192
          |||
Sbjct 56  GCTCCACCGCCTCC 43

>100283012-5H
Sequence ID: Query_21512 Length: 69
Range 1: 21 to 31

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 888 CATCGCCACCA 898
          |||
Sbjct 21  CATCGCCACCA 31

>100220259-5H
Sequence ID: Query_21489 Length: 139
Range 1: 87 to 97

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 131 TGCGCACCCAG 141
          |||
Sbjct 87  TGCGCACCCAG 97

>100362506-5H
Sequence ID: Query_21474 Length: 69
Range 1: 7 to 17

Score:21.1 bits(22), Expect:3.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus

Query 14 TCCTCCCGTCC 24
          |||
Sbjct 7  TCCTCCCGTCC 17

```

Anexo 5. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Protocolofilido Oxido Reductasa A (PORA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100219455-4H                               |
Sequence ID: Query_53793 Length: 69          |>100283012-5H
Range 1: 50 to 65                             Sequence ID: Query_53916 Length: 69
                                                Range 1: 21 to 31
Score:25.6 bits(27), Expect:0.29,            |
Identities:15/16(94%), Gaps:0/16(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 129  CGGCCTCCGCACCAAG 144             |
          || ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 50   CGACCTCCGCACCAAG 65              |

>100362506-5H                               |
Sequence ID: Query_53878 Length: 69          |
Range 1: 7 to 19                             |
Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,            |
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Minus |
Query 24   CTTCTCTCCGTCC 36                 |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 19   CTTCTCTCCGTCC 7                  |

>100356515-6H                               |
Sequence ID: Query_53826 Length: 69          |
Range 1: 22 to 34                             |
Score:24.7 bits(26), Expect:0.29,            |
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Minus |
Query 648  CCTCATCATCGTG 660                |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 34   CCTCATCATCGTG 22                 |

>100217218-4H                               |
Sequence ID: Query_53788 Length: 69          |
Range 1: 32 to 43                             |
Score:22.9 bits(24), Expect:1.0,             |
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 767  CCGCCATGATCG 778                 |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
|
|>100283012-5H                               |
Sequence ID: Query_53916 Length: 69          |
Range 1: 21 to 31                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 909  CATCGCCACCA 919                  |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 21   CATCGCCACCA 31                  |

Range 2: 37 to 47                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus |
Query 954  CCTCCTCTTCC 964                  |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 47   CCTCCTCTTCC 37                  |

|>100218478-Un                               |
Sequence ID: Query_53791 Length: 69          |
Range 1: 41 to 51                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 949  TTCCGCCTCCT 959                  |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 41   TTCCGCCTCCT 51                  |

>100362495-3H                               |
Sequence ID: Query_53828 Length: 69          |
Range 1: 54 to 64                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 267  CGCCTCCTCCG 277                  |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 54   CGCCTCCTCCG 64                  |

>100328316-4H                               |
Sequence ID: Query_53816 Length: 69          |
Range 1: 24 to 34                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 602  GCGAGCTCCTC 612                  |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
|
|>100218478-Un                               |
Sequence ID: Query_53791 Length: 69          |
Range 1: 41 to 51                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 1090 TCCGCCTCCTT 1100                 |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 42   TCCGCCTCCTT 52                  |

Range 2: 42 to 52                             |
Score:21.1 bits(22), Expect:3.6,             |
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus |
Query 1090 TCCGCCTCCTT 1100                 |
          ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |
Sbjct 42   TCCGCCTCCTT 52                  |

```

Anexo 6. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Protoclorofilido Oxido Reductasa B (PORB) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100327445-5H
Sequence ID: Query_17888 Length: 69
Range 1: 35 to 69
Score:34.6 bits(37), Expect:7e-04,
Identities:29/35(83%), Gaps:2/35(5%), Strand: Plus/Plus
Query 788 GCTCCCGCGC---CGGCGGCGACGACGCGGACGACG 820
Sbjct 35 GCTCCCGCGCTTCGCCGACGCGGACGCGGACGCGCG 69

>100286471-5H
Sequence ID: Query_17925 Length: 69
Range 1: 14 to 27
Score:26.5 bits(28), Expect:0.11,
Identities:14/14(100%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 405 CCGCCGCTCGTGC 418
Sbjct 14 CCGCCGCTCGTGC 27

>100344712-4H
Sequence ID: Query_17834 Length: 69
Range 1: 18 to 36
Score:31.0 bits(33), Expect:0.009,
Identities:18/19(95%), Gaps:0/19(0%), Strand: Plus/Plus
Query 832 CTACCGACGACGAGGTGG 850
Sbjct 18 CTCTCCGACGACGAGGTGG 36

Range 2: 12 to 23
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus
Query 697 CGCCGCCCTC 708
Sbjct 12 CGCCGCCCTC 23

>100212940-5H
Sequence ID: Query_17897 Length: 69
Range 1: 29 to 53
Score:22.0 bits(23), Expect:4.6,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 714 CGTGCTCTCCGACG 727
Sbjct 14 CGGGCTCTCCGACG 27

Range 2: 14 to 27
Score:24.7 bits(26), Expect:0.38,
Identities:22/27(81%), Gaps:2/27(7%), Strand: Plus/Plus
Query 1373 CCTCCGACGACGTGGAGTACTCCCGT 1399
Sbjct 29 CCTCCGACGACTCGAAG--CTCCCGT 53

>100339331-6H
Sequence ID: Query_17833 Length: 69
Range 1: 28 to 45
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1209 GCACAAGTTCG 1219
Sbjct 56 GCACAAGTTCG 66

>100219455-4H
Sequence ID: Query_17807 Length: 69
Range 1: 41 to 53
Score:24.7 bits(26), Expect:0.38,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus
Query 807 CGACGCCGACGAC 819
Sbjct 41 CGACGCCGACGAC 53

>100216585-5H
Sequence ID: Query_17927 Length: 69
Range 1: 2 to 13
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 769 CTCCTGGCTGC 780
Sbjct 13 CTCCTGGCTGC 2

Range 2: 47 to 57
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 762 CGAGGACTCC 772
Sbjct 47 CGAGGACTCC 57

>100283012-5H
Sequence ID: Query_17930 Length: 69
Range 1: 33 to 51
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:18/21(86%), Gaps:2/21(9%), Strand: Plus/Minus
Query 8 TCTTCCTCCTCCTGATCC 28
Sbjct 51 TCTTCCTCCTCCT--CATCC 33

>100216585-5H
Sequence ID: Query_17929 Length: 69
Range 1: 2 to 13
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 769 CTCCTGGCTGC 780
Sbjct 13 CTCCTGGCTGC 2

>100362506-5H
Sequence ID: Query_17892 Length: 69
Range 1: 33 to 44
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1253 ACACCTTCACCC 1264
Sbjct 33 ACACCTTCACCC 44

>100217796-Un
Sequence ID: Query_17803 Length: 69
Range 1: 24 to 35
Score:22.9 bits(24), Expect:1.3,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 794 GCGCCGGCGGCG 805
Sbjct 35 GCGCCGGCGGCG 24

>100215297-6H
Sequence ID: Query_17800 Length: 69
Range 1: 52 to 65
Score:22.0 bits(23), Expect:4.6,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 244 CTCCTGGCTGC 255
Sbjct 52 TCTTCCTCCTCCTC 65

```

```

>100213703-SH
Sequence ID: Query_17926 Length: 69
Range 1: 30 to 40
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 499 GCCGACGGCGA 509
          |||
Sbjct 30  GCCGACGGCGA 40

>100315532-SH
Sequence ID: Query_17923 Length: 69
Range 1: 30 to 40
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 499 GCCGACGGCGA 509
          |||
Sbjct 30  GCCGACGGCGA 40

>100313106-SH
Sequence ID: Query_17922 Length: 69
Range 1: 30 to 40
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 499 GCCGACGGCGA 509
          |||
Sbjct 30  GCCGACGGCGA 40

>100286688-SH
Sequence ID: Query_17895 Length: 69
Range 1: 15 to 25
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 916 GTGAAGTACCT 926
          |||
Sbjct 15  GTGAAGTACCT 25

Range 2: 43 to 53
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 890 CCACCGCCTCC 900
          |||
Sbjct 53  CCACCGCCTCC 43

>100219528-Un
Sequence ID: Query_17808 Length: 69
Range 1: 59 to 69
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1048 CGCGTGATCCT 1058
          |||
Sbjct 69  CGCGTGATCCT 59

>100218345-2H
Sequence ID: Query_17872 Length: 69
Range 1: 28 to 38
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1127 AGGGCTTCCTC 1137
          |||
Sbjct 28  AGGGCTTCCTC 38

>100359086-3H
Sequence ID: Query_17841 Length: 69
Range 1: 17 to 27
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 196 TTCCTCTCCTC 206
          |||
Sbjct 17  TTCCTCTCCTC 27

>100353580-Un
Sequence ID: Query_17839 Length: 69
Range 1: 51 to 61
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 395 ACCTCCGCCTC 405
          |||
Sbjct 61  ACCTCCGCCTC 51

>100327484-3H
Sequence ID: Query_17829 Length: 69
Range 1: 5 to 15
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 969 CGCCGCCATCC 979
          |||
Sbjct 15  CGCCGCCATCC 5

>100312967-6H
Sequence ID: Query_17825 Length: 69
Range 1: 53 to 63
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1278 CGTGACGCCT 1288
          |||
Sbjct 63  CGTGACGCCT 53

>100223286-Un
Sequence ID: Query_17813 Length: 69
Range 1: 4 to 14
Score:21.1 bits(22), Expect:4.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 636 GGGCTACAAC 646
          |||
Sbjct 14  GGGCTACAAC 4

```

Anexo 7. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ácido abscísico (ABA) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100217138-3H
Sequence ID: Query_38997 Length: 69
Range 1: 12 to 24

Score:24.7 bits(26), Expect:0.13,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus

Query 356 GCGGCGAGCAGGC 368
          |||
Sbjct 12  GCGGCGAGCAGGC 24

>100356515-6H
Sequence ID: Query_39036 Length: 69
Range 1: 48 to 58

Score:21.1 bits(22), Expect:1.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 353 ACCGCGGCGAG 363
          |||
Sbjct 48  ACCGCGGCGAG 58

>100220373-2H
Sequence ID: Query_39059 Length: 69
Range 1: 15 to 26

Score:22.9 bits(24), Expect:0.44,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus

Query 152 ACGCCGAGGCC 163
          |||
Sbjct 15  ACGCCGAGGCC 26

>100348533-3H
Sequence ID: Query_39033 Length: 69
Range 1: 56 to 66

Score:21.1 bits(22), Expect:1.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 384 CTCCGAGATCG 394
          |||
Sbjct 56  CTCCGAGATCG 66

>100221880-2H
Sequence ID: Query_39043 Length: 69
Range 1: 15 to 26

Score:22.9 bits(24), Expect:0.44,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Plus

Query 152 ACGCCGAGGCC 163
          |||
Sbjct 15  ACGCCGAGGCC 26

>100223286-Un
Sequence ID: Query_39009 Length: 69
Range 1: 15 to 25

Score:21.1 bits(22), Expect:1.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 230 ACATCGGCCTC 240
          |||
Sbjct 15  ACATCGGCCTC 25

>100214710-2H
Sequence ID: Query_39048 Length: 69
Range 1: 40 to 50

Score:21.1 bits(22), Expect:1.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 486 GATACCAAGC 496
          |||
Sbjct 48  GATACCAAGC 58

>100220037-4H
Sequence ID: Query_39005 Length: 69
Range 1: 3 to 13

Score:21.1 bits(22), Expect:1.5,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus

Query 412 CAGGCCGCCGA 422
          |||
Sbjct 3   CAGGCCGCCGA 13

```

Anexo 8. Complemento de resultados de alineamiento en pares de Ycf3 y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100217796-Un
Sequence ID: Query_35649 Length: 69
Range 1: 23 to 36
Score:26.5 bits(28), Expect:0.061,
Identities:14/14(100%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 14 CCGCCGCCGGCGCC 27
          |||
Sbjct 23 CCGCCGCCGGCGCC 36

>100327445-5H
Sequence ID: Query_35734 Length: 69
Range 1: 34 to 44
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 227 AGCTCCCGCGC 237
          |||
Sbjct 34 AGCTCCCGCGC 44

Range 2: 47 to 57
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 816 CGCCGACGCCG 826
          |||
Sbjct 47 CGCCGACGCCG 57

Range 3: 53 to 63
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 816 CGCCGACGCCG 826
          |||
Sbjct 53 CGCCGACGCCG 63

Range 4: 59 to 69
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 16 GCCCGCGCGCC----TCCACCATGTC 38
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 41 GCCGTCGGCGTCTTGTCACCATGTC 15

>100353580-Un
Sequence ID: Query_35685 Length: 69
Range 1: 15 to 41
Score:22.0 bits(23), Expect:2.6,
Identities:21/27(78%), Gaps:4/27(14%), Strand: Plus/Minus
Query 16 GCCCGCGCGCC----TCCACCATGTC 38
          ||| ||| ||| |||
Sbjct 41 GCCGTCGGCGTCTTGTCACCATGTC 15

>100285019-4H
Sequence ID: Query_35667 Length: 69
Range 1: 43 to 56
Score:22.0 bits(23), Expect:2.6,
Identities:13/14(93%), Gaps:0/14(0%), Strand: Plus/Plus
Query 201 CGTGGACGAGGAGA 214
          || |||
Sbjct 18 CACCTCACCC 8

>100328896-6H
Sequence ID: Query_35677 Length: 69
Range 1: 11 to 21
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 6 CATCGCCGCCG 16
          |||
Sbjct 21 CATCGCCGCCG 11

>100312967-6H
Sequence ID: Query_35671 Length: 69
Range 1: 56 to 66
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 492 CTTCTGTCACG 502
          |||
Sbjct 66 CTTCTGTCACG 56

>100327484-3H
Sequence ID: Query_35675 Length: 69
Range 1: 31 to 41
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 174 CTCCAAGCTCA 184
          |||
Sbjct 41 CTCCAAGCTCA 31

>100314698-6H
Sequence ID: Query_35674 Length: 69
Range 1: 19 to 29
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 781 TGCCTCATCCC 791
          |||
Sbjct 29 TGCCTCATCCC 19

>100213818-2H
Sequence ID: Query_35715 Length: 69
Range 1: 8 to 18
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 243 CACCTCACCC 253
          |||
Sbjct 18 CACCTCACCC 8

>100215297-6H
Sequence ID: Query_35646 Length: 69
Range 1: 4 to 14
Score:21.1 bits(22), Expect:2.6,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 809 AGATGGCCGCC 819
          |||
Sbjct 4 AGATGGCCGCC 14

```

Anexo 9. Complemento de resultados de alineamiento en pares de proteína *stay green* inducible a la senescencia y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq

```

Alignments:
>100286368-5H
Sequence ID: Query_33022 Length: 69
Range 1: 53 to 69
Score:27.4 bits(29), Expect:0.11,
Identities:16/17(94%), Gaps:0/17(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1288 CATCGCATGCATGCATG 1304
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 53 CATCACATGCATGCATG 69

Range 2: 58 to 69
Score:22.9 bits(24), Expect:1.4,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1293 CATGCGATGCATG 1304
      ||| ||||| |||||
Sbjct 69 CATGCGATGCATG 58

>100222957-6H
Sequence ID: Query_32936 Length: 69
Range 1: 51 to 67
Score:25.6 bits(27), Expect:0.39,
Identities:17/18(94%), Gaps:1/18(5%), Strand: Plus/Plus
Query 1286 GCCATCGCATGCATGCAT 1303
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 51 GCCAT-GCATGCATGCAT 67

Range 2: 53 to 65
Score:24.7 bits(26), Expect:0.39,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1292 GCATGCATGCATG 1304
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 65 GCATGCATGCATG 53

Range 3: 53 to 65
Score:24.7 bits(26), Expect:0.39,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1293 CATGCGATGCATGC 1305
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 53 CATGCGATGCATGC 65

Range 4: 53 to 67
Score:23.8 bits(25), Expect:1.4,
Identities:14/15(93%), Gaps:0/15(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1294 ATGCGATGCATGCGTG 1308
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 67 ATGCGATGCATGCGTG 53

|
>100329169-3H
Sequence ID: Query_32956 Length: 69
Range 1: 48 to 60
Score:24.7 bits(26), Expect:0.39,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Minus
Query 597 CGGCGCGGCTGAC 609
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 60 CGGCGCGGCTGAC 48

Range 2: 1 to 11
Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 392 AAGCAGTCGA 402
      ||| ||||| |||||
Sbjct 11 AAGCAGTCGA 1

>100283956-3H
Sequence ID: Query_32944 Length: 69
Range 1: 9 to 21
Score:24.7 bits(26), Expect:0.39,
Identities:13/13(100%), Gaps:0/13(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1002 CAGCCATGGCGGC 1014
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 9 CAGCCATGGCGGC 21

>100218065-4H
Sequence ID: Query_32928 Length: 69
Range 1: 5 to 16
Score:22.9 bits(24), Expect:1.4,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 48 GCACGCACACGC 59
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 16 GCACGCACACGC 5

>100217796-Un
Sequence ID: Query_32927 Length: 69
Range 1: 40 to 51
Score:22.9 bits(24), Expect:1.4,
Identities:12/12(100%), Gaps:0/12(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1165 GCCGCCGAGTG 1176
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 51 GCCGCCGAGTG 40

Range 2: 50 to 60
Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1534 GCTGCAACAAG 1544
      ||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 50 GCTGCAACAAG 60

```

Anexo 10. Complemento de resultados de alineamiento en pares del gen de proteína stay green (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq (Parte I)



```

>100327445-5H
Sequence ID: Query_33012 Length: 69
Range 1: 15 to 30

Score:22.0 bits(23), Expect:4.8,
Identities:15/16(94%), Gaps:1/16(6%), Strand: Plus/Plus
Query 634 CGCC-GGCAGCTGCA 648
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 15 CGCCAGCGCAGCTGCA 30

>100286130-5H
Sequence ID: Query_33006 Length: 69
Range 1: 2 to 12

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1001 GCAGCCATGGC 1011
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 2 GCAGCCATGGC 12

Range 2: 47 to 57

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1147 CGCCGACGCCG 1157
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 47 CGCCGACGCCG 57

>100281861-5H
Sequence ID: Query_33002 Length: 69
Range 1: 51 to 61

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1267 GCGGTGGCGGC 1277
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 61 GCGGTGGCGGC 51

Range 3: 53 to 63

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1147 CGCCGACGCCG 1157
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 53 CGCCGACGCCG 63

>100353580-Un
Sequence ID: Query_32963 Length: 69
Range 1: 15 to 25

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 359 TCCACCATGTC 369
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 25 TCCACCATGTC 15

Range 4: 59 to 69

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1147 CGCCGACGCCG 1157
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 59 CGCCGACGCCG 69

>100314698-6H
Sequence ID: Query_32952 Length: 69
Range 1: 19 to 29

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1112 TGCCTCATCCC 1122
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 29 TGCCTCATCCC 19

>100311960-5H
Sequence ID: Query_33023 Length: 69
Range 1: 15 to 25

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 53 CACACGCGACC 63
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 25 CACACGCGACC 15

>100312967-6H
Sequence ID: Query_32949 Length: 69
Range 1: 38 to 48

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 1068 CGCGGCGGTGC 1078
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 48 CGCGGCGGTGC 38

>100360625-5H
Sequence ID: Query_33015 Length: 69
Range 1: 56 to 66

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1030 GGCCGCGGACG 1040
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 56 GGCCGCGGACG 66

>100285019-4H
Sequence ID: Query_32945 Length: 69
Range 1: 46 to 56

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 535 GGACGAGGAGA 545
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 46 GGACGAGGAGA 56

>100220062-4H
Sequence ID: Query_32934 Length: 69
Range 1: 54 to 64

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Minus
Query 821 GCGTTCGTGCA 831
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 64 GCGTTCGTGCA 54

>100215297-6H
Sequence ID: Query_32924 Length: 69
Range 1: 4 to 14

Score:21.1 bits(22), Expect:4.8,
Identities:11/11(100%), Gaps:0/11(0%), Strand: Plus/Plus
Query 1140 AGATGGCCGCC 1150
      ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 4 AGATGGCCGCC 14

```

Anexo 11. Complemento de resultados de alineamiento en pares del gen de proteína stay green (SGR) y alelos dominantes (SNPs) encontrados en Dartseq (Parte II)

## **XI. PERSPECTIVAS**

Profundizar en el estudio en las características estomáticas, variables determinadas con tecnología infrarroja de las progenies de cebada forrajera y su relación en la tolerancia a sequía, calor y otras condiciones adversas.

Llevar a cabo más ciclos de producción de semilla en nuevas localidades en ambientes semiáridos, para recomendar un sistema de producción de semillas de cebada forrajera en Noreste de México

Realizar estudios sobre evaluaciones de fechas de aplicación, tipo de fertilizante y disponibilidad hídrica para mejorar el sistema de producción de forraje y semilla en condiciones semiáridas.

De las progenies sobresalientes, realizar las respectivas evaluaciones de características de planta, grano y recomendaciones de producción de semilla, para el registro de nuevas variedades de cebada forrajera ante el Servicio Nacional de Inspección y Comercialización de Semillas (SNICS).

Realizar investigaciones sobre la asociación del índice de verdor (NDVI) y el contenido de minerales de forraje en las progenies de cebada forrajera.

Generar el estudio de alineamiento de secuencias del resto de SNPs con otras biomoléculas involucradas en otras actividades metabólicas de la planta, como resistencia a enfermedades, tolerancia a sequía y salinidad.

Realizar estudios de identificación de secuencias que no se encuentren registradas en el GenBank y puedan ser aptentadas.

## XII. BIBLIOGRAFIA

- Abadía, B y Barosik, R. 2013. Manual de buenas prácticas en poscosecha de granos: hacia el agregado valor en origen. Ediciones INTA. Buenos Aires, ISBN No 978-987-679-264-6, 194 p.
- Abe, H, Yamaguchi-Shinozaki, K, Urao, T, Iwasaki, T., Hosokawa, D. y Shinozaki, K. 1997. Role of arabidopsis MYC and MYB homologs in drought and abscisic acid regulated gene expression. *Plant Cell* 9: 1859-1868.
- Acosta, YM, Stallings, CC, Polan, CE, and Miller, CN. 1991. Evaluation of barley silage harvested at boot and soft dough stages. *J. Dairy Sci.* 74:167-176.
- Aguilar, LEY, Bórquez, LJ, Domínguez, AI, Morales, OA, Gutiérrez, MMG & González RM. 2013. Forage yield, chemical composition and in vitro gasproduction of triticale (*X. triticosecale* wittmack) and barley (*Hordeum vulgare*) asociated with Common vetch (*Vicia sativa*) preserved as hay or silage. *Journal of agricultural science.* 5(2):227-238. doi:10.5539/jas.v5n52p227.
- Alam, M, Neal, J, O'Connor, K, Kilian, A & Topp, B. 2018. Ultra-high-throughput DArTseq-based silicoDArT and SNP markers for genomic studies in macadamia. *PLoS ONE* 13(8): e0203465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203465>
- Alam, MZ, Haider, SA. and Paul NK. 2007. Yield and yield components of barley (*Hordeum vulgare* L.) in relation to sowing times. *J. Biol. Sci.* 15: 139-145.
- Alhabbar, Z, Islam, S, Yang, R, Diepeveen, D, Anwar, M, Balotf, S, Sultana, N, Maddern, R, She, M, Zhang, J, Ma, W & Juhaszet, A. 2018. Associations of NAM-A1 alleles with the onset of senescence and nitrogen use efficiency under Western Australian conditions. 214, 180. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2266-4>
- Allen, JF, de Paula, WBM, Puthiyaveetil, S, & Nield, J. 2011. A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 16(12), 645–655. doi:10.1016/j.tplants.2011.10.004
- Alsop, BP, Farre, A, Wenzl, P, Wang, JM, Zhou MX, Romagosa, I, Kilian, A and Steffenson, BJ. 2011. Development of wild barley-derived DArT markers and their integration into a barley consensus map. *Mol Breeding* 27, 77–92. <https://doi.org/10.1007/s11032-010-9415-3>
- Álvarez, HA, Morales, NCR, Corrales, LR, Avendaño, ACH, Rubio, AHO, & Villarreal, GF. 2018. Caracterización estomática, concentración de clorofila y su relación con producción de biomasa en *Bouteloua curtipendul*. *Agron. Mesoam.* 29(2):251-261. ISSN 2215-3608, doi:10.15517/ma.v29i2.29900.
- AOSA, Association Official Seed Analists. 1992. Seed Vigour Testing handbook. Association Official Seed Analists Contribution No. 32 to the handbook of seed testing. US. 6(2): 1-126.
- APHA (American Public Health Association), 1998. American Waterworks, Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF). Standard Methods for Examination of Water and Sewage and Wastewater. 20a ed. New York.
- Arenas, CWN, Cardozo, CCI y Baena, M. 2015. Análisis de los sistemas de semillas en países de América latina. *Acta Agronómica.* 64(3):239-245.
- Armstrong GA, Runge S, Frick G, Sperling U y, Apel K. 1995. Identification of NADPH: Protochlorophyllide Oxidoreductases A and B: A Branched Pathway

- for Light- Dependent Chlorophyll Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 4: 1505-1517.
- Arriaga, L, Espinoza, JM, Aguilar, C, Martínez, E, Gómez, L y Loa, E. 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 611 p.
- Ataei, M. 2006. Path analysis of barley (*Hordeum vulgare* L.) yield. *Tarim Bilimleri Dergisi*. Ankara University Fakültesi, 12(3):227-232. <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/15/183/1451.pdf>.
- Babar, M. A., Reynolds, M. P., van Ginkel, M., Klatt, A. R., Raun, W. R., & Stone, M. L. 2006. Spectral Reflectance to Estimate Genetic Variation for In-Season Biomass, Leaf Chlorophyll, and Canopy Temperature in Wheat. *Crop Science*, 46(3), 1046.doi:10.2135/cropsci2005.0211
- Bailey, KJ, Gray, JE, Walker, RP, & Leegood, RC. 2007. Coordinate Regulation of Phosphoenolpyruvate Carboxylase and Phosphoenolpyruvate Carboxykinase by Light and CO<sub>2</sub> during C<sub>4</sub> Photosynthesis. *PLANT PHYSIOLOGY*, 144(1), 479–486.doi:10.1104/pp.106.093013
- Baloch FS, Alsaleh A, Shahid MQ, CËiftcËi V, E. SaÂenz de Miera L, Aasim M, Nadeem, MA, Aktaş, H, HakanOË zkan, Hatipođlu, R. 2017. A whole genome DArTseq and SNP analysis for genetic diversity assessment in durum wheat from central fertile crescent. *PLoS ONE* 12(1): e0167821.doi:10.1371/journal.pone.0167821
- Barutcular, C, Toptas, I, Turkten, H, Yildirim, M and Koc M. 2015. Spad greenness to estimate genotypic variation in flag leaf chlorophyll in spring wheat under Mediterranean conditions. *Turk J Field Crops*. 20(1):1-8
- Bastidas, A.; Barahona, R. and Cerón, M. 2018. Variation in the normalized difference vegetation index (NDVI) in dairy farms in northern Antioquia. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 28, Article #43. Retrieved January 16, 2018, <http://www.lrrd.org/lrrd28/3/bast28043.html>
- Baumgartner, BJ, Rapp, JC, & Mullet, JE. 1989. Plastid Transcription Activity and DNA Copy Number Increase Early in Barley Chloroplast Development. *PLANT PHYSIOLOGY*, 89(3), 1011–1018.doi:10.1104/pp.89.3.1011
- Bautista, VM, Nuñez, GA, Amaya, GC, Báez, GJ, Espinoza, MA., Rodríguez, AA., Miranda, VL., Catañeda, GE. y, Cárdena, AM. 2016. Influencia del tipo y tiempo de cocción de la degradación de clorofila en hortalizas. *Revista de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol.1, No.1 p. 411-416.
- Beltrán, LS, Loredó, OC y Zamora, DM. 2011. Manejo integrado del cultivo de cebada en condiciones de temporal en San Luis Potosí. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Noreste. Campo Experimental San Luis. San Luis Potosí, S.L.P. Folleto Técnico No. 40. Primera Ed. 35p. ISBN 978-607-425-705-2
- Bergh, R, Baez, A, Quattrocchio, A y Zamora, M. 2000. Fertilización nitrogenada para calidad en trigo candeal. *Informaciones Agronómicas* 7: 13-16.
- Bertholdsson, ON. 2013 Screening for barley waterlogging tolerance in nordic barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) using chlorophyll fluorescence on hydroponically-grown plants. *Agronomy*. 2013, (3):376-390. Doi:10.3390/agronomy3020376.

- Bleidorn, C. 2017. Sequencing strategies. In: Phylogenomics. Springer, Cham. Chapter 4.62-75. ISBN 978-3-319-54062-1. DOI: 10.10007/978-3-319-54064-1\_4.
- Blum, A. 1985. Photosynthesis and Transpiration in Leaves and Ear of Wheat and Barley Varieties, *J. Exp. Bot*, 36: 432-440.
- Borrell, AK, Hammer, GL and Henzell RG. 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Sci* 40:1037-1048.
- Bothmer, R, Sato, K, Komatsuda, T, Yasuda, S and Fischbeck, G. 2003. The domestication of cultivated barley. In *Diversity in Barley*. Ed. Bothmer R Von. Hintum T van, Knüpffer H, Sato K. Elsevier Science B.V., Amsterdam, NL p. 127.
- Boudreau, E, Takahashi, Y, Lemieux, C, Turmel, M and Rochaix, JD. 1997. The chloroplast *ycf3* and *ycf4* open reading frames of *Chlamydomonas reinhardtii* are required for the accumulation of the photosystem I complex. *The EMBO Journal* Vol.16 No.20 pp.6095–6104, 1997.
- Box, A. 2008. The biology of *Hordeum vulgare* L. (Barley). Australian Government: Department of health and ageing. Consultado 17 sep 2017 Disponible en: [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/barley-3/\\$FILE/biologybarley08.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/barley-3/$FILE/biologybarley08.pdf)
- Briones, EF, Castro, NS, López, SJA, & Trinidad, SA. 2009. Óptimos analíticos y económicos de modelos aplicados en experimentación agrícola. *Agricultura técnica en México*, 35(1), 89-95. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0568-25172009000100009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172009000100009&lng=es&tlng=es)
- Buchanan, BB, Gruissem W and Jones RL. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland. 1158-1203 pp.
- Bunney, TD, van Walraven, HS, & de Boer, AH. 2001. 14-3-3 protein is a regulator of the mitochondrial and chloroplast ATP synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 4249–4254. doi:10.1073/pnas.061437498.
- Buraas, T and Skinnes, H. 1984. Genetic investigations on seed dormancy in barley. *Hereditas* 101(1984):235-244.
- Cai, S, Yu, G, Chen, X, Huang, Y, Jiang, X, Zhang, G and Jin, X. 2013. Grain protein content variation and its association analysis in barley. *BMC Plant Biology*. 13:35. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/13/35>
- Callejo, GMJ. 2002. *Industrias de cereales y derivados*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid Pp. 24-35.
- Calvo, VD. 2016. Selección de nuevas líneas de cebada imberbe por su comportamiento forrajero a partir de las fracciones: tallos, hojas, espigas y de grano. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Pp 64.
- Cañizares, A, Sanabria, ME, Rodríguez, DA y Perozo, Y. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomática de los hojas de limas Tahatí (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista científica UDO Agrícola* 3:59-64.
- Carreck, NL and Christian DG. 1991. Studies on the patterns of nitrogen uptake and translocation to the grain of winter barley intended for malting. *Ann.appl.Biol.* 119. 549-559. 10.1111/j.1744-7348.1991.tb04894.x

- Castañeda, MC, López, C, Colinas, MT, Molina, J y Hernández, A. 2009. Rendimiento y calidad de la semilla de cebada y trigo en campo e invernadero. *Interciencia*, 34(4): 286-292.
- Cha, KW, Lee, YJ, Koh, HS, Nam, YW and Pack, NC. 2002. Isolation, characterization and mapping of the stay green mutant in rice. *Theor Appl Genet* 104, 156-532.
- Chang, S, and Robinson D. 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management* 181: 331-338.
- Chávez, C.E.; Paz, P.F. y Bolaños, G. M. A. 2017. Estimación de biomasa y cobertura aérea usando radiometría e imágenes digitales a nivel de campo en pastizales y matorrales. *Terra Latinoamericana* 35: 247-257.
- Christopher, YJ, Veyradier, M, Borrell, AK, Harvey, G, Fletcher, S and Chenu, K. 2014. Phenotyping novel stay-green traits to capture genetic variation in senescence dynamic. *Functional Plant Biology*. 41:1035-1048. doi:10.1071/FP14052.
- Clarke, AR, Swift, HJ, Reid, LJ and Koltermann, PK. 1990. The formation of Greenland Sea Deep Water: double diffusion or deep convection? *Deep-Sea Research*. 37(9)1385-1424. DOI: 10.1016/0198-0149(90)90135-I.
- Colín, RM, Zamora, VVM, Lozano, del RAJ, Martínez, ZG y Torres, TMA. 2007. Caracterización y selección de nuevos genotipos imberbes de cebada forrajera para el norte y centro de México. *Téc Pecu Méx* 45(3):249-262. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61345301>
- Colín, RM, Zamora, VVM, Torres, TMA y Jaramillo SMA. 2009. Producción y valor nutritivo de genotipos imberbes de cebada forrajera en el norte de México. *Téc Pecu Méx* 47(1):27-40.
- Colin, RM. 2007. Producción de materia seca, valor nutritivo e interacción genotipo ambiente en líneas imberbes de cebada forrajera. Tesis de maestría. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Coll, JB, Rodrigo, GN, García, BS y Tamés, RS. 1995. Fisiología vegetal. Madrid. Ediciones Pirámide. 662 p.
- Cook, CW, and Box, TW. 1961. A comparison of the loop and point methods of analyzing vegetation. *J, Range Manage.* 14:22-27.
- Cristiano, PM, Posse, G, Bella, DCM and Jaimes, FR. 2010. Uncertainties in fPAR estimation of grass canopies under different stress situations and differences in architecture', *International Journal of Remote Sensing*. 31(15):4095-4109.
- Cuello, J, Quiles JM and Sabater, B. 1987. Control by phytochrome of the synthesis of protein related to senescence in chloroplasts of barley (*Hordeum vulgare*). *Physiologia Plantarum*. 71:341-344.
- De Dios, CA. 1996. Secado de granos y secadoras. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Oficina Regional para América Latina y el Caribe y la Red de información sobre operaciones en poscosecha (INPhO), Santiago, Chile.
- Del Blanco, IA, Rajaram, S, Kronstad, WE and Reynolds, MP. 2000. Physiological performance of synthetic hexaploid wheat-derived populations. *Crop Sci* 40:1257-1263.
- Domínguez, M, López, CLE, Benítez, RCI y Mejía, CJA. 2016. Desarrollo radical y rendimiento en diferentes variedades de trigo, cebada y triticale bajo

- condiciones limitantes de humedad del suelo. *Terra Latinoamericana* 34: 393-407.
- Doraiswamy, PC, Moulin, S, Cook, PW and Stern, A. 2003. Crop yield assessment from remote sensing. *Photogramm. Eng. Remote Sens.* 69(6):665-674.
- Doria, Jessica. 2010. Revisión bibliográfica. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74-85. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362010000100011&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011&lng=es&nrm=iso)
- Doyle, JJ and Doyle, JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12:13-15.
- Dracatos, PM, Haghdoost, R, Singh, RP, Huerta EJ, Barnes, CW, Forrest, K, Hayden, M, Niks, RE, Park, RF & Singh, D. 2019. High-Density Mapping of Triple Rust Resistance in Barley Using DArT-Seq Markers. *Frontiers in Plant Science*, 10. doi:10.3389/fpls.2019.00467.
- Edet, OU, Gorafi, YSA, Nasuda, S & Tsujimoto, H. 2018. DArTseq-based analysis of genomic relationships among species of tribe Triticeae. *Sci Rep* 8, 16397. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34811-y>
- Ekboir, J, Espinosa, GJA, Arellano, EjdeJ, Moctezuma, LG y Tapia, NA. 2003. Análisis del sistema mexicano de investigación agropecuaria. Méxco, D.F. CIMMYT. ISSN: 0258-8595. 33Pp.
- Espitia, RE, Villaseñor, MHE, Tovar, GR, De la O, OM, y Limón, OA. 2012. Momento óptimo de corte para rendimientos y calidad de variedades de avena forrajera. *Rev. Mex. Cien. Agríc.* 3(4):771-783.
- FAO, ECOPROP 1. 1994. The adaptability level of the FAO crop environmental requirements database. Versión 1.0. AGLS. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. FAO. Roma, Italia.
- Fedak, G. 1985. Wide crosses in *Hordeum*. Mikkeli, FI. Rasmusson. p. 180.
- Ferraris, G y Couretot, L. 2006. Estudio de la interacción nitrógeno \* azufre sobre el rendimiento mediante la aplicación de fertilizantes líquidos. Campaña 2005/2006. Experiencia en el cultivo de trigo. Proyecto Regional Agrícola Centro Regional Bs. Norte: 181-186.
- Flores, EI, Moreno, CH, Figueroa, VU y Potisek, YMdelC. 2014. Disponibilidad de N y desarrollo de avena forrajera (*Avena sativa* L.) aplicación de biosólidos. *Terra Latinoamericana Volumen 32 No. 2* pp 99-105.
- Fontanetto, H, Gambaudo, S, Keller, O, Albrecht, J, Sillón, M, Gianinetto, G, Meroi, G, Berrone, G, Meyer, M, Cánepa, C, y Ruffino, P. 2011. Formas de aplicación, dosis y fuentes nitrogenadas en cebada. Estación experimental agropecuaria Rafaela. Información técnica de trigos y otros cultivos de invierno, Campaña 2011. Publicación miscelánea No. 119. 93-99.
- Fontanetto, H, Keller, O, Salas, J y Tesore, G. 2009. Efecto de diferentes fuentes nitrogenadas en un cultivo de cebada. Estación experimental agropecuaria Rafaela. Información técnica de trigos y otros cultivos de invierno, Campaña 2009. Publicación miscelánea No. 113. 62-68.
- Freeman, KW, Girma, K, Arnall, DB, Mullen, RW, Martin, KL, Teal, RK and Raun, WR. 2007. By-Plant Prediction of Corn Forage Biomass and Nitrogen Uptake at Various Growth Stages Using Remote Sensing and Plant Height. *Agron. J.* 99:530-536.

- Gao, X, & Starmer, JD. 2008. AWclust: point-and-click software for non-parametric population structure analysis. *BMC Bioinformatics* 9, 77. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-77>
- García, del MLF, Rharrabti, Y, Villegas, D and Royo C. 2003. Evaluation of grain yield and its components in Durum wheat under Mediterranean conditions: An ontogenic approach. *Agron. J.* 95: 266-274.
- Garnero, S. 2012. Calidad intrínseca de los granos en la poscosecha. Tesis de Maestría. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional. edUTTEcNe <http://www.edutecne.utn.edu.ar>, Argentina. Fecha de acceso: 12 sep. 2019.
- Gay, AP and Thomas, H. 1996. Leaf development in *Lolium temulentum* L.: photosynthesis in relation to growth and senescence. *New Phytologist* 130: 159-168.
- Gentinetta, E, Ceppi, D, Lepori, C, Perico, G, Motto, M and Salamini, F. 1986. A major gene for delayed senescence in maize. Pattern of photosynthates accumulation and inheritance. *Plant Breed* 97:193–203.
- Geren, Hakan. 2014. Dry matter yield and silage quality of some winter cereals harvested at different stages under mediterranean climate conditions. *Turkish journal of field crops.* 19(2):197-202.
- Gilabert, MA, González, PJ y García, HJ. 1997. Acerca de los índices de vegetación. *Revista de Teledetección*, 8: 35-45.
- Gill, SK, Omokaye, TA, Pettyjhon, PJ and Elsen, M. 2013. Evaluation of forage type barley varieties for typeforage yield and nutritive value in the peace region of Alberta. *Journal of agricultural science.* 5(2):24-36. doi:10.5539/jas.v5n2p24.
- González, G, Mendoza, FM, Covarrubias, J, Morán, N y Acosta, JA. 2008. Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del Bajío. *Agricultura técnica en México.* 34(4):421-430.
- González, GM, Zamora, DM y Solano, HS. 2016. Evaluación agronómica y física en líneas avanzadas de cebada maltera. *Rev. Mex. Cien. Agríc.* 7(1):159-171. doi.org/10.29312/remexca.v7i1.380
- González, MJH. 2009. Decisiones empresariales para un año sin red. Proc Jornada de Actualización Técnica Trigo, Cebada y Colza 2009., Azul Buenos Aires, Argentina: 19-20.
- González, RF, León, DG, Borges, GL, Pinzón, LL, Magaña, MM, Sangines, GR y Urrestarazu, GM. 2014. Envejecimiento acelerado sobre la calidad de maíz para producir germinados para forraje alternativo. *Rev. Mex. Cien. Agríc.* 8(3):1487-1493. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263131168014>.
- Gous, PW, Hickey, L, Christopher, JT, Franckowiak, J, & Fox, GP. 2015. Discovery of QTL for stay-green and heat-stress in barley (*Hordeum vulgare*) grown under simulated abiotic stress conditions. *Euphytica*, 207(2), 305–317. doi:10.1007/s10681-015-1542-9
- Grageda, OA, Esparza, GF, Zapata, F& Peña, CJJ. 2000, Influence of sorghum residue management on the recovery of 15N labelled fertilizer by wheat in Mexico. *Journal of Sustainable Agriculture.* 16(3):75-91. DOI: 10.1300/J064v16n03\_06
- Gregor, J., and Maršalek B. 2004. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. *Water Research*, 38(3), 517–522. doi:10.1016/j.watres.2003.10.033



- Griffiths, JFA. *et al.* 2002. Genética. McGraw-Hill Interamericana. ISBN 84-486-0368-0
- Guo, P, Baum, M, Varshney, RK, Graner, A, Grando, S, & Ceccarelli, S. 2007. QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought. *Euphytica*, 163(2), 203–214. doi:10.1007/s10681-007-9629-6
- Gutiérrez, RM, Reynolds, MP, Escalante, EJA y Larqué, SA. 2005. Algunas consideraciones en la relación entre fotosíntesis y el rendimiento de grano en trigo. *Ciencia Ergo Sum*, vol. 12, núm. 2, julio-octubre, pp. 149-154 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10412206>
- Hajiboland, R, Joudmand, A, Aliasghar zad, N, Tolrá, R, Poschenrieder, C. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate low-temperature stress and increase freezing resistance as a substitute for acclimation treatment in barley. *Crop and Pasture Science* 70, 218-233. <https://doi.org/10.1071/CP18385>
- Harrison, MA, Nemson, JA & Melis, A. 1993. Assembly and composition of the chlorophyll a-b light-harvesting complex of barley (*Hordeum vulgare* L.): Immunochemical analysis of chlorophyll b-less and chlorophyll b-deficient mutants. *Photosynth Res* 38, 141–151. <https://doi.org/10.1007/BF00146413>
- Hernández, JE. 2009. Comportamiento de líneas elite de cebada forrajera imberbe (*Hordeum vulgare* L.) para producción de materia seca y relación hoja-tallo en el Norte de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Saltillo Coahuila. México.
- Hilhorst, HWM. 2011. Standardizing seed dormancy research. *In: Seed Dormancy, Methods in Molecular Biology*. Kermode Allison R. (ed.). Springer Science. pp:43-52.
- Hoffman, EM, Fassana, NC, Mazzilli, S., Berger, A y Ernst, O. 2016. La necesidad de incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno en cereales de invierno. IAH. 24. [http://www.ipni.net/publication/ialacs.nsf/0/C1A5D8F37C76C39B032580910057CC9B/\\$FILE/2.pdf](http://www.ipni.net/publication/ialacs.nsf/0/C1A5D8F37C76C39B032580910057CC9B/$FILE/2.pdf)
- Holtorf, H, Reinbothe, S, Reinbothe, C, Bereza, B, & Apel, K. 1995. Two routes of chlorophyllide synthesis that are differentially regulated by light in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(8), 3254–3258. doi:10.1073/pnas.92.8.3254
- Houspanossian, J, Schirmbeck, J, Rivas, R, Vazquez, P. 2007. Teledetección. Hacia un mejor entendimiento de la dinámica global y regional. Relación entre la temperatura radiactiva de la vegetación y el contenido de agua en suelo. Ed. Martín. ISBN: 978-987-543-126.3 pp.137-141.
- Hughes, J, Hepworth, C, Dutton, C, Dunn, AJ, Hunt, L, Stephens, J, Waugh, R, Cameron DD and Gray EJ. 2017. Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiology*. 174:776-787. doi:10.104/pp.16.01844.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2009. International rules for seed testing Edition 2009. The International Seed Testing Association, Zürichstr. 50 CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. ISBN-13 978-3-906549-53-8.
- Jemison, JM, & Lytle, DE. 1996. Field Evaluation of Two Nitrogen Testing Methods in Maine. *Jpa*, 9(1), 108. doi:10.2134/jpa1996.0108

- Jones, KA and Qualset, CO. 1984. Breeding crops for environmental stress tolerance. In: G.B. Collins y J.G. Petolino, eds. Applications of Genetic Engineering to Crop Improvement. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, Publishers.
- Jordan, DR, Hunt, CH, Cruickshank, AW, Borrell, AK & Henzell, RG. 2012. The relationship between stay-green trait and grain yield in elite sorghum hybrids grown in a range of environments. *Crop Sci.* 52:1153-1161. 10.2135/cropsci2011.06.0326
- Joshi, AK, Kumasi, M, Singh, VP, Reddy, CM, Kumar, S, Rane, J and Chand, R. 2007. Stay green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L). *Euphytica* 153: 59-71.
- Juskiw, PE, Helm, JH and Salmon, DF. 2000. Forage yield and quality for monocrops and mixtures of small grain cereals. *Crop Sci.* 40:138-147.
- Kamiya, Y. 2010. Plant Hormones: Versatile Regulators of Plant Growth and Development. *Annual Review of Plant Biology* 61, Special Online Compilation.
- Kang, J, Choi, H, Im, M and Kim, SY. 2002. Arabidopsis Basic Leucine Zipper Proteins that Mediate Stress- Responsive Abscisic Acid Signaling. *Plant Cell* 14 (2): 343-357
- Kapotis, G, Zervoudakis G, Veltsistas T, and Salahas G. 2003. Comparison of chlorophyll meter readings with leaf chlorophyll concentration in *Amaranthus vlitus*: correlation with physiological processes. *Russian Journal of Plant Physiology* 50 (3): 395-397.
- Khorasani, GR, Bedel, PE, Helm, JH and Kennelly, JJ. 1997. Influence of stage of maturity on yield components and chemical composition of cereal grain silages. *Can. J. Anim. Sci.* 77:259-267. doi.org/10.4141/A96-034
- Kilian, A, Wenzl P, Huttner, E, Carling, J, Xia L, Blois, H, et al. 2012. Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. In: Bonin FPAA, editor. *Data Production and Analysis in Population Genomics: Methods and protocol*. New York Heidelberg Dordrecht London: Springer;2012. p. 67–89.
- Kingston-Smith, AH, Thomas, H and Foyer, CH. 1997. Chlorophyll a fluorescence, enzyme and antioxidant analyses provide evidence for the operation of alternative electron sinks during leaf senescence in a stay-green mutant of *Festuca pratensis*. *Plant Cell Environ.* 20: 1323–1337.
- Kipp, S, Mistele, B and Schmidhalter, U. 2013. Identification of stay-green and early senescence phenotypes in high-yielding winter wheat, and their relationship to grain yield and grain protein concentration using high-throughput phenotyping techniques. *Functional Plant Biology* 41, 227-235. <https://doi.org/10.1071/FP13221>
- Koca, N, Karadeniz F & Selen BH. 2006. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry.* 100(2) 609-615. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.079>
- Komatsuda, T, Pourkheirandish, M, He, C, Azhaguvel, P, Kanamori, H, Perovic, D, Stein, N, Graner, A, Wicker, T, Tagiri, A, Lundqvist, U, Fujimura, T, Matsuoka, M, Matsumoto, T and Yano, M. 2007. Six-rowed barley originated from a mutation in a homeodomain-leucine zipper I-class homeobox gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2(1): 104.

- Kuzmina, ML, Braukmann, TWA, Fazekas, AJ, Graham, SW, Dewaard, SL, Rodrigues, A, Catling, PM, Newmaster, SG, Percy, DM, Fenneman, E, Lauron, MA, Ford, B, Gillespie, L, Subramanyam, R, Whitton, J, Jennings, L, Metsger, D, Warne, CP, Brown, A, Sears, E, Dewaard, JR, Zakharov, EV and Hebert, PDN. 2017. Using Herbarium-Derived DNAs to Assemble a Large-Scale DNA Barcode Library for the Vascular Plants of Canada. *Applications in Plant Sciences*, 5(12), 1700079. doi:10.3732/apps.1700079.
- Lawson, T, Simkin, AJ, Kelly, G, & Granot, D. 2014. Mesophyll photosynthesis and guard cell metabolism impacts on stomatal behaviour. *New Phytologist*, 203(4), 1064–1081. doi:10.1111/nph.12945.
- Lebedev, NN, and Timko, MP. 1998. Ptochlorophyllide photoreduction. *Photosynthetic Reserch* 58:5-23.
- Leegood, CR and Walker, PR. 2002. Regulation and roles of phosphoenolpyruvate carboxykinase in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 414:204-210. doi:10.1016/S0003-9861(03)00093-6
- Legaria, JP. 2004. Evolución molecular de los genes Badh. *Revista Fitotecnia Mexicana* [en línea]. 2004, 27(1), 57-67. ISSN: 0187-7380. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61027108>
- Li, T, Kromdijk, J, Heuvelink, E, van Noort, FR, Kaiser, E and Marcelis, LFM. 2016. Effects of Diffuse Light on Radiation Use Efficiency of Two Anthurium Cultivars Depend on the Response of Stomatal Conductance to Dynamic Light Intensity. *Front. Plant Sci.* 7:56. doi: 10.3389/fpls.2016.00056.
- Loera, J y Banda, J. 2017. Industria lechera en México: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Rev. Investig. Altoandín* 19(4):419-426.
- Lopes, SM, and Reynolds, PM. 2012. Stay-green in spring wheat can be determined by spectral reflectance measurements (normalized difference vegetation index) independently from phenology, *Journal of Experimental Botany*, Volume 63, Issue 10, 13 June, Pages 3789–3798, <https://doi.org/10.1093/jxb/ers071>
- López, MV. 1983. Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- López, PP, Guzmán, OF, Santos, LE, Prieto, GF y Román, GA. 2005. Evaluación de la calidad física de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala, México. *Revista Chilena de Nutrición*, 32 (3) ISSN impreso:0716-1549. dx.doi.org/10.4067/S0717-75182005000300010
- Luna, MBM, Hinojosa, RMA, Ayala, GOJ, Castillo, GF & Mejía CA. 2012. Perspectives of the maize seed industry development in Mexico. *Revista fitotecnia mexicana*. 35(1):1-7.
- Luo, Z, Zhang, J, Li, J, Yang, C, Wang, T, Ouyang, B, Li, H, Giovannoni, J and Zhibiao Y. 2013. A stay-green protein SISGR1 regulates lycopene and b-carotene accumulation by interacting directly with SIPSY1 during ripening processes in tomato. *New Phytologist*. 198: 442–452.
- Mahalakshmi, V and Bidinger, FR. 2002. Evaluation of stay-green sorghum germplasm lines at ICRISAT. *Crop Science*, 42(3), 965-974.
- Maiocchi, MG y Avanza, JR. 2004. Degradación de clorofilas y feofitinas a diferentes temperaturas en *Ilex dumosa* e *Ilex paraguariensis*. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas Univ. Nac. del Nord. Argentina Resumen E-*, 1–4.

- Manly, BFJ. 1986. Multivariate statistical methods: A primer. London: Chapman and Hall. London-New York, 159 p. ISBN: 0-412-28610-6.
- Manrique, RE. 2003. Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. Ecosistemas Asociación Española de Ecología Terrestre Alicante, España XII(1):1-11.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=540/54012108>
- Marcel, RJ. 2006. Drought adaptation in cereals (Crop Science). Food Products Press, Editon Illustrated, University of Minnesota. ISBN 166022778; 978156022778.
- Marcos Filho Julio. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72(4), 363-374, <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>
- Martínez, GR, Zavaleta, HA, Del Mar, RPL, Delgado, AH y, Vaca, PR. 2008. Intercambio de gases y relaciones hídricas durante el retraso de la senescencia foliar de trigo (*Triticum aestivum* L.) por la citocinina BAP. *Interciencia* 33: 140-145.
- Martre, P, Jamieson DP, Semenov, AM, Zyskowski, FR, Porter, RJ & Triboi, E. 2006. Modelling protein content and composition in relation to crop nitrogen dynamics for wheat. *Europ J. Agronomy* 25(2006):138-154. doi: 10.1016/j.eja.2006.04.007
- Mašková, Z, Zemek, F, Květ, J. 2008. Normalized difference vegetation index (NDVI) in the management of mountain meadows *Boreal Environ. Res.* 13(5):417- 432.
- Masuda, T, Fusada, N, Oosawa, N, Takamatsu, K, Yamamoto, YY, Ohto, M, Nakamura, K, Goto, K, Shibata, D, Shirano, Y, Hayashi, H, Kato, Y, Tabata, S, Shimada, H, Ohta, H and Takamiya, K. 2003. Functional Analysis of Isoforms of NADPH: Protochlorophyllide Oxidoreductase (POR), PORB and PORC, in *Arabidopsis thaliana*, *Plant and Cell Physiology*, Volume 44, Issue 10, Pp 963–974, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcg128>.
- Matthews, S., Noli, E., Demir, I., Khajehhosseini, M. & Wagner, M.H. 2012. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Res.* 22:69.
- McCourt, P. 1999. Genetic analysis of hormone signaling. *Annual Review of Plant. Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 219-243.
- Melchiori, RJM, Caviglia, OP, Faccendini, N, Bianchini, A y Raun, WR. 2006. Evaluación de refertilización nitrogenada basada en la utilización de un sensor óptico. INTA EEA Paraná. Actualización Técnica en maíz. Serie Extensión n° 41 p 33:36
- Mendoza, EM, Cortez, BE, Rivera, RJG, Rangel, LJA, Andrio, EE y Cervantes, O F. 2011. Época y densidad de siembra en la producción y calidad de semilla de triticale (*X Triticosecale Wittmarck*). *Revista Agronomía Mesoamericana*. 22 (2): 309-316. [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v22n2\\_309.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v22n2_309.pdf). ISSN: 1021-7444.
- Mendoza, M, Latournerie, L, Moreno, E, Castañón, G, Cruz, J, De León, C y García, JG. 2004. Cambios en la calidad de la semilla de maíz durante su desarrollo y maduración. *Agronomía Mesoamericana*. 15(2):155-160.
- Meneses, EAA, Rozo, MLV & Franco, SJ. 2011. Tecnologías bioinformáticas para el análisis de secuencias de ADN *Bioinformatics Technologies for the Analysis of*

- DNA sequences. *Scientia et Technica* Año XVI, No 49. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701 116. Pp. 116-121
- Miersch, I, Heise, J, Zelmer, I, & Humbeck, K. 2000. Differential Degradation of the Photosynthetic Apparatus During Leaf Senescence in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Biology*, 2(6), 618–623. doi:10.1055/s-2000-16632.
- Mirosavljević, M, Momčilović, V, Mikić, S, Trkulja, D, Brbaklić, L, Zorić, M, and Abičić, I. 2020. Changes in stay-green and nitrogen use efficiency traits in historical set of winter barley cultivars. *Field crops research*. 249(2020)107740. doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107740
- Mogensen LLM. 1996. The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants. *American Journal of Botany*. 83(3):383-404. doi:10.1002/j.1537-2197.1996.tb12718.x
- Moreno, GJ. 2001. Marcadores moleculares en la mejora genética de plantas. Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. La Coruña, España. <http://seg.umh.es/Docencia/lecciones/marcmol.html>.
- Moreno, ME. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Tercera edición. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México, D.F. ISBN 968-36-5778-8. 393 p.
- Mullet, JE. 1988. Chloroplast development and gene expression. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 39: 475-502. <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.pp.39.060188.002355>
- Nakamura, T, Shoji, A and Fujisawa, N. 2005. Cluster análisis and association study of structured multilocus genotype data. *J Hum Genet* 50: 53-61 doi:10.1007/s10038-004-0220-x
- Navarro, M, Febles, G y Verena, T. 2012. Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. *Pastos y Forrajes*, 35 (3), julio-septiembre, 233-246. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942012000300001&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000300001&lng=es&nrm=iso)
- Nellaepalli, S, Ozawa, S, Kuroda, H, & Takahashi, Y. 2018. The photosystem I assembly apparatus consisting of Ycf3–Y3IP1 and Ycf4 modules. *Nature Communications*, 9(1). doi:10.1038/s41467-018-04823-3
- Nelson, C, Rosegrant, M, Koo, J, Robertson, R, Sulser, T, Zhu, T, Ringler, C, Msangi, S, Palazo, A, Batka, M, Magalhaes, M, Valmonte, SR, Ewing, M y Lee, D. 2009. Cambio climático: el impacto en la agricultura y los costos de adaptación. Instituto Internacional de Investigación sobre políticas alimentarias IPFRI. 30p. Disponible desde Internet en: [www.fao.org](http://www.fao.org). (con acceso 10/08/2010).
- Newman, RK and Newman, WC. 2008. Barley History: Relationship of Humans and Barley through the Ages. In: Newman RK and Walter Newman C. *Barley for Food and Health. Science, Technology and Products*. John Wiley & Sons, Inc (Ed), New Jersey, Ch 1, 1-18.
- Norma Oficial NMX-FF-043-SCFI-2003. 2003. Productos alimenticios para consume humano-cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum distichum* L.) Especificaciones y métodos de prueba.
- NCR, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 2001. Seventh ed. National Academy Press, Washington, DC. 401 p.

- Nuñez, VJA, Grageda, COA, Vuelvas, CMA y Peña, CJJ. 2001. Absorción de nitrógeno (15N) por el cultivo de cebada en relación con la disponibilidad de agua en el Bajío, Guanajuato, Revista Terra 20: 57-64.
- Nyima, T, Zeng, X, Xu, T, Ling, Z, Wang, Y, Li, X, Xu, S, Xu, Q, Zha, S, Qimei, W, Basang, Y, Dunzhu, J, Yu, M and Yuan, H. 2019. Direct Submission JOURNAL Submitted (29-OCT-2019) Genebang, Genebang, Tianfu 5th Road, Chengdu, Sichuan 610094, China
- Okkels, JS. 1992. Molecular analysis of barley chloroplast proteins. In: Biotechnology in Agriculture, Barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology, Vol. 5, Chapter 8, PR Slewry (Ed.), CAB International pp. 153-179.
- Orabi, J, Backes, G, Wolday, A, Yahyaoui, A and Jahoor, A. 2007. The horn of Africa as a centre of barley diversification and a potential domestication site. Theor Appl Genet. 1(14):1117–1127.
- Orcarberro, R y Briseño, HVM. 1983. Valor nutritivo y rendimiento de la avena forrajera (*Avena sativa* L.) Ópalo en distintos estados de desarrollo. Revista Chanpingo Pp.42, 85.
- Ortiz, M, Silva, H, Silva, P y Acevedo, E. 2003. Estudio de parámetros hídricos foliares en trigo (*Triticum aestivum* L.) y su uso en selección de genotipos resistentes a sequía. Revista chilena de historia natural, 76(2), 219-233. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2003000200008>
- Pacheco, A, Alvarado, G, Rodríguez, F and Burgueño, J. 2016. BIO-R (Biodiversity analysis with R for Windows) Version 2.0. 2016-12-06. 2019. CIMMYT Research Data & Software Repository Network. <http://hdl.handle.net/11529/10820> hdl/11529/10820
- Pandey, R, Chacko, PM, Choudhary, ML, Prasad, KV, and Pal, M. 2007. Higher than optimum temperature under CO<sub>2</sub> enrichment influences stomata anatomical characters in rose (*Rosa hybrida*). Scientia Horticulturae 113(2007):74-81
- Park, SY, Yu, JW, Park, JS, Li, J, Yoo, SC, Lee, NY, Jeong, SW, Seo, HS, Koh, HJ, Jeon, JS, Park, YII and Paek, NC. 2007. The Senescence-Induced Staygreen Protein Regulates Chlorophyll Degradation. THE PLANT CELL ONLINE, 19(5), 1649–1664. doi:10.1105/tpc.106.044891
- Pask, A.J.D.; Pietragalla, J.; Mullan, D.M. and Reynolds, M.P. (Eds.). 2012. Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping. México, D.F.: CIMMYT, 41-43.
- Pérez, RJA, Zamora, DM, Mejía, CJA, Hernández, LA y Solano, HS. 2016. Evaluación de 10 genotipos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en cinco fechas de siembra y dos ciclos agrícolas. Agrociencia México; 5(2) 201- 213
- Pérez-Ruiz, JA, Mejía CJA, Hernández, LA & Zamora DM. 2015. No seed dormancy in mexican malting barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Revista fitotecnia mexicana*, 38(3), 249-255. Recuperado en 14 de abril de 2020, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802015000300003&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802015000300003&lng=es&tlng=en).
- Piekielek, WP, & Fox, RH. 1992. Use of a Chlorophyll Meter to Predict Sidedress Nitrogen. *Agronomy Journal*, 84(1):59-65 doi:10.2134/agronj1992.00021962008400010013x

- Plücken, H, Müller, B, Grohmann, D, Westhoff, P, & Eichacker, LA. 2002. The HCF136 protein is essential for assembly of the photosystem II reaction center in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letters, 532(1-2), 85–90. doi:10.1016/s0014-5793(02)03634-7.
- Poehlman, JM. 1981. Mejoramiento Genético de las cosechas. Primera edición. Ed. Limusa. México.
- Pollman, S, Springer, A, Buhr, F, Lahroussi, A, Samol, I, Bonneville, J, Tichtinsky, G, Von, WD, Reinbothe, C and Reinbothe, S. 2007. A plant porphyria related to defects in plastid import of protochlorophyllide oxidoreductase. Proceedings of the National Academy of Sciences 104: 2019-2023.
- Popinigis F. 1985. Fisiología da semente. 2a. ed. Brasil. 269 p.
- Prystupa, P, Ferraris, G, Loewy, T, Bergh, R, Ventimiglia, L, Gutierrez, BFH & Couleot, L. 2008. Fertilización de cebada cervecera cv. Scarlett: IV. Estimación de la respuesta del contenido proteico a la fertilización nitrogenada. XXI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Portero de los Funes (SL). Manejo y conservación del agua y suelo, riego y drenaje. 239 p.
- Prystupa, P, Gutierrez, BFH, Salvaggiotti, F, Ferraris, G and Couretot, L. 2006. Measuring corn response to fertilization in the Northern Pampas. Better Crops 90: 25-27.
- Quintana, EAO, Iracheta-DL, Méndez-LI y, Alonso-BM. 2017. Caracterización de genotipos elite de *Coffea canephora* por su tolerancia a la sequía Agron. Mesoam. 28(1):183-198. 2017 ISSN 2215-3608 doi:10.15517/am.v28i1.23874
- Rama, R, Ragimasalawada, M, Sabbavarapu, M, Nadoor, S, & Patil, J. 2014. Detection and validation of stay-green QTL in post-rainy sorghum involving widely adapted cultivar, M35-1 and a popular stay-green genotype B35. BMC Genomics, 15(1), 909. doi:10.1186/1471-2164-15-909
- Ramírez, GF, Roblero, TV, Foroughbakhch, PR, Benavides, MA y, Alvarado, MA, 2013. Variabilidad de polen, densidad y tamaño de stomas en autotetraploides y diploides de *Physalis ixocarpa*. Botanical Sciences 91 (1):11-18.
- Ramírez, NU, Rodríguez, GA, Morán, VN, Cervantes, OF, Mendoza, EM y Rangel, LJA. 2014. Manejo agronómico de cebada maltera, rendimiento de semillas y componentes. Ciencia y Tecnol. Agrop. México; 2(1):24-29.
- Ramírez-Salcedo, J, Chavez, L, Santillán, J y Guzmán, S. 2003. Microarreglos de DNA. Flores, HO, Riveros, RH, Sosa, PA, Vázquez, CE (eds). Mensaje Bioquímico, Vol XXVII. Depto Bioquímica, Fac Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México, DF, México. <http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>. ISSN-0188-137X. 97-120 p.
- Ramkumar, MK, Senthil, KS, Gaikwad, K, Pandey, R, Chinnusamy, V, Kumar SN, Kumar, SA, Mohapatra, T and Mithra SA. 2019. A novel stay-green mutant of rice with delayed leaf senescence and better harvest index confers drought tolerance. Plants, 375. doi:10.3390/plants8100375.
- Raun, W. R.; Solie, J. B.; Taylor, R. K.; Arnall, D. B.; Mack, C. J. and Edmon, D.E. 2008. Ramp calibration strip technology for determining midseason nitrogen rates in corn and wheat. Agronomy Journal. Volume 100, Issue 4, 1088-1093.
- Reinbothe, S, Reinbothe, C, Lebedev, N and Apel, K. 1996. PORA and PORB, Two Light- Dependent Protochlorophyllide-Reducing Enzymes of Angiosperm Chlorophyll Biosynthesis. Plant Cell 5: 763-769.

- Ren, G, An, K, Liao, Y, Zhou, X, Cao, Y, Zhao, H, Ge, X, & Kuai, B. 2007. *Identification of a Novel Chloroplast Protein AtNYE1 Regulating Chlorophyll Degradation during Leaf Senescence in Arabidopsis*. *PLANT PHYSIOLOGY*, 144(3), 1429–1441. doi:10.1104/pp.107.100172.
- Reynolds, MP, Rajaram, S, and Sayre KD. 1999. Physiological and genetic changes of irrigated wheat in the post-green revolution period and approaches for meeting projected global demand. *Crop Sci.* 39:1611-1621.
- Rish, SY, Breiman, A. 1993. RNA editing of the barley (*Hordeum vulgare*) mitochondrial ATP synthase subunit 9. *Plant Mol Biol* 22, 711–714. <https://doi.org/10.1007/BF00047412>.
- Ristic, Z, Bukovnik, U and Vara, PPV. 2007. Correlation between Heat Stability of thylakoid membranes and loss of chlorophyll in winter wheat under heat stress. *Crop Sci.* 47:2067-2073. doi:10.2135/cropsci2006.10.0674
- Rivera, RC, Zapata, AA, Pinilla, G, Donato, J, Chaparro, B y Jiménez, P. 2005. Comparación de la estimación de la clorofila-a mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico. *Acta Biológica Colombiana.* 10(2):95-103.
- Rodrigues, de ALR, Rodrigues, TJ, Reis, AR e Filho, SCV. 2006. Avaliação de características fisiológicas de cinco cultivares de Cynodon. *Acta Sci. Anim. Sci.* 28(3):245-250. doi:10.4025/actascianimsci.v28i3.36
- Romero, BJ, Lara, FLA, Franco, MJR, Dominguez, VIA, Salem, AZM and González, RM. 2013. Impacts of different levels of nitrogen fertilization on yield production, chemical composition and in vitro gas production of different varieties of barley (*Hordeum vulgare*) forages. *African Journal of Agricultural Research* Vol.8(5):454-459. doi:10.5897/AJAR12.1932.
- Rosenow, DT, Quisenberry, JE, Wendt, CW and Clark, LE. 1983. Drought tolerance sorghum and cotton germoplasm. *Agric. Water Mang.* 7:207-222.
- Sakuraba, Y, Park, SY, & Paek, NC. 2015. The divergent roles of STAYGREEN (SGR) homologs in chlorophyll degradation. *Molecules and Cells*, 38(5), 390–395. doi:10.14348/molcells.2015.0039
- Sansaloni, CP, Petroli CD, Carling J, Hudson CJ, Steane DA, Myburg AA, et al. 2010. A high-density Diversity Arrays Technology (DArT) microarray for genome-wide genotyping in Eucalyptus. *Plant Methods.*;6(1):16.
- Santibáñez, F. 1994. Crop requirements: Temperature crops. In: *Handbook of agricultural meteorology*. J.F.Griffiths Editor. Oxford Univ. Press New York.; USA. pp. 174-188.
- SAS Institute Inc. 2009. Base SAS® 9.1.3 Procedures Guide. Second Edition, Vol. 4. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 398 p.
- Saski, C, Lee, SB, Fjellheim, S, Guda, C, Jansen, RK, Luo, H, Tomkins, J, Rognli, OA, Daniell, H and Clarke, JL. 2007. Complete chloroplast genome sequences of *Hordeum vulgare*, *Sorghum bicolor* and *Agrostis stolonifera*, and comparative analyses with other grass genomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 115(4), 571–590. doi:10.1007/s00122-007-0567-4
- Schulz, R, Steinmüller, K, Klaas, M, Forreiter, C, Rasmussen, S, Hiller, C, & Apel, K. 1989. Nucleotide sequence of a cDNA coding for the NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase (PCR) of barley (*Hordeum vulgare* L.) and



- its expression in *Escherichia coli*. *MGG Molecular & General Genetics*, 217(2-3), 355–361. doi:10.1007/bf02464904
- Scott, MP, Nielsen, VS, Knoetzel, J, Andersen, R and Moller, BL. 1994. Import of the barley PSI-F subunit into the thylakoid lumen of isolated chloroplasts. *Plant Mol Biol* 26, 1223–1229. <https://doi.org/10.1007/BF00040704>
- Serna-Saldivar, SRO. 2001. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor, México D.F. pp 3-23.
- Servicio Meteorológico Nacional, Centro Nacional de Previsión del Tiempo (CNPT). <https://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias> (Agosto 2019)
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). 2019. Regla para la calificación de semillas, Cereales. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172406/Cereales.pdf>
- Slafer, GA, Satorre, EH and Andrade FH. 1994. Increase in Grain Yield in Bread Wheat from Breeding and Associated Physiological Changes, en Slafer, G. A. (ed.). “Genetic improvement of field crops”, Marcel Dekker, Inc., Nueva York.
- So, PY, Jae, WY, Jong, S, Jinjie, L, Soo, ChY, Na, YL, Sang, KL, Seok, WJ, Hak, SS, Hee, JK, Jong, SJ, Youn, IIP and Nam, ChP. 2017. The Senescence-Induced Staygreen Protein Regulates Chlorophyll Degradation. *The Plant Cell*, Vol. 19: 1649–1664, May 2007, [www.plantcell.org](http://www.plantcell.org) a 2007 American Society of Plant Biologists.
- Soto, JL & Valiengo, S. 2011. Prueba de la conductividad eléctrica en la evaluación fisiológica de la calidad de semillas en *Zeyheria tuberculosa*. *Bosque, Valdivia*. 32(2)197-202.
- Spano, G, Di Fonzo, N, Perrota, C, Platani, C, Ronga, G, Lawlor, DW, Napier, JA and Shewry, PR. 2003. Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *J of Exp Bot* 54:1415-1420.
- Spanu, PD, Abbott, JC, Amselem, J, Burgis, TA, Soanes, DM, Stuber, K, Themaat, EVL, Brown, JKM, Butcher, BA, Gurr, SJ, Lebrun, MH, Ridout, CJ, Schulze, LP, Talbot, NJ, Ahmadinejad, N, Ametz, C, Barton, GR, Benjdia, M, Bidzinski, P, Bindschedler, LV, Both, M, Brewer, MT, Cadle, DL, Cadle, DMM, Collemare, J, Cramer, R, Frenkel, O, Godfrey, D, Harriman, J, Hoede, C, King, BC, Klages, S, Kleemann, J, Knoll, D, Koti, PK, Kreplak, J, López RFJ, Lu, X, Maekawa, T, Mahanil, S, Micali, C, Milgroom, MG, Montana, G, Noir, S, O'Connell, RJ, Oberhaensli, S, Parlange, F, Pedersen, C, Quesneville, H, Reinhardt, R, Rott, M, Sacristán, S, Schmidt, SM, Schön, M, Skamnioti, P, Sommer, H, Stephens, A, Takahara, H, Thordal, CH, Vigouroux, M, Weßling, R, Wicker, T, & Panstruga, R. 2010. Genome Expansion and Gene Loss in Powdery Mildew Fungi Reveal Tradeoffs in Extreme Parasitism. *Science*, 330 (6010), 1543–1546. doi:10.1126/science.1194573
- Strand E. 1989. Studies on seed dormancy in small grain species. I. Barley. *Norwegian Journal of Agricultural Science* QD 85-99.
- Teal, RK, Tubana B, Girma, K, Freeman, KW, Arnall, DB, Walsh, O and Raun, WR. 2006. In-Season Prediction of Corn Yield Potential Using Normalized Difference Vegetation Index. *Agron. J*. 98: 1488-1494.
- Thomas, H and Smart, CM. 1993. Crops that stay green. *Ann Appl Biol* 123:193-201.

- Thomas, H. And Howarth, C.J. 2000. Five ways to stay green. *J Exp Bot* 51:329-337. doi.org/10.1093/jexbot/51.suppl\_1.329.
- Tian, ZD, Liu, J and Xie, CH. 2003. Isolation of resistance related-genes to *Phytophthora infestans* with suppression subtractive hybridization in the R- gene-free potato. *Yi Chuan Xue Bao* 30: 597-605.
- Tooke, F, Ordidge, M, Chiurugwi, T and Battey, N. 2005. Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion. *Journal of Experimental Botany* 56, 2587-2599.
- Toral, M, Manríquez, A, Navarro, CR, Tersí, D and Naulin, P. 2010. Características de los estomas, densidad e índice estomático en secuoya (*Sequoia sempervirens*) y su variación en diferentes plantaciones de Chile. *Bosque* 31 (2): 157-164.
- Trewavas, A. 2003. Aspects of plant intelligence. *Annals of Botany* 92: 1-20
- Ugarte, C., Calderini, D. F., & Slafer, G. A. 2007. Grain weight and grain number responsiveness to pre-anthesis temperature in wheat, barley and triticale. *Field Crops Research*, 100(2-3), 240–248. doi:10.1016/j.fcr.2006.07.010.
- Vera, NJA, Grageda, COA, Vuelvas, CMA y Peña, CJJ. 2002. Absorción de nitrógeno (<sup>15</sup>N) por el cultivo de cebada en relación con la disponibilidad de agua en en “El Bajío”, Guanajuato, México. *Terra Latinoamericana* 20(1):57-64. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57320110>
- Verhulst, N.; Govaerts, B. y Fuentes, P.M. 2010. Sensor portátil GreenSeeker™ para la medición del índice diferencial de vegetación normalizado (NDVI): Una herramienta para la evaluación integral de las prácticas agronómicas. Parte A: Conceptos y estudios de caso. México, D.F.; CIMMYT. Pp.13.
- Vicková, A, Spundová, M, Kotabová, E, Novotný, R, Dolezal, K and Naus, J. 2006. Protective cytokinin actions switches to damaging during senescence of detached wheat leaves in continuous light. *Physiologia Plantarum* 126: 257-267.
- Walter, Q y Orlando, C. 2009. La importancia del insumo de la semilla de buena calidad. Inédito. Oficina Nacional de Semillas.
- Wenzi, P, Carling, J, Kudrna, D, Jaccoud, D, Huttner, E, Kleinhofs, A and Kilian, A. 2004. Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Plant Biol.* 101(26):9915-9920. DOI:10.1073/pnas.0401076101.
- Wilkinson, HP. 1979. The plant surface (mainly leaf). En: Metcalfe C.R. y Chalk L. Eds. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2nd ed. Vol. 1, pp. 97-165, Clarendon Press, Oxford.
- Wilson, GCY, Hernández, GA, Ortega, CME, López, CC, Bárcena, GR, Zaragoza, RJL y Aranda, OG. 2017. Análisis del crecimiento de tres líneas de cebada para producción de forraje, en valle de México. *Rev. FCA*, 49(2): 79-92. ISSN impreso 0370-4461. ISSN (en línea) 1853-8665.
- Wingler, A, Mares, M and Pourtau, N. 2004. Spatial patterns and metabolic regulation of photosynthetic parameters during leaf senescence. *New Phytologist* 161:781-789.
- Wójcik, JM, Fiust, A, Kościelniak, J & Rapacz, M. 2017. Association mapping of drought tolerance-related traits in barley to complement a traditional biparental QTL mapping study. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(1), 167–181. doi:10.1007/s00122-017-2994-1

- Wu, C, Niu, Z, Tang, Q and Huang, W. 2008. Estimating chlorophyll content from hyperspectral vegetation indices: modeling and validation. *Agric. For. Meteorol.* 148:1230-1241. doi:10.1016/j.agrformet.2008.03.005
- Yaguas, OJ. 2017. Metodología de superficie de respuesta para optimización de una producción agrícola. *Revista ingeniería industrial* Año 16 no.1 205-222, doi.org/10.22320/S07179103/2017.13
- Yong, T, Chen, P, Dong, Q, Du, Q, Yang, F, Wang, X, Liu, W and Yang, W. 2018. Optimized nitrogen application methods to improve nitrogen use efficiency and nodule nitrogen fixation in a maize-soybean relay intercropping system. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(3): 664-676. doi: 10.1016/S2095-3119(17)61836-7.
- Zadoks, JC, Chang, TT and Konzak, CF. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, Volume 14. 415-421.
- Zajac, CC, Vallejos, AG, Zajac, EE y Galantini, J. 2013. Análisis del rendimiento en cereales de invierno mediante mapas de rendimiento y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) en el Sudoeste Bonaerense, Argentina. *Chilean J. Agric. Anim: Sci., ex Agro-Ciencia* 29(2):95-102.
- Zamora, DM, Pérez, RJ, Huerta, AR, López, CM, Gómez, MR y Rojas, MI. 2017. Maravilla: variedad de cebada forrajera para Valles Altos de México. *Rev.Mex. Cien. Agríc.* Ago-Sep.8(6):1449-1454. doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v8i6.317.
- Zamora, DM, Solano, HS, Garza, GR, Islas, GJ, Huerta, ZR, y López, CM. 2010. Armida, nueva variedad de cebada maltera para riego en el Bajío. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.1 Núm.5 1 de octubre - 30 de diciembre, 2010 p. 723-726
- Zar, JH. 1996. *Biostatistical analysis*. 3° Ed. Prentice-Hall. Inc. Upper Saddle River. New Jersey. 662 pp.
- Zavaleta, MHA, Franklin, KA, Ougham, HJ, Thomas, H and Scott, IM. 1999a. Regreening of senescent *Nicotiana* leaves I. Reappearance of NADPH- protochlorophyllide oxidoreductase and light-harvesting chlorophyll a/b- binding protein. *Journal of Experimental Botany* 50: 1677-1682.
- Zavaleta, MHA, Thomas, HA, Thomas B. J., H. and Scott, I. M. 1999b. Regreening of senescent *Nicotiana* leaves. II. Redifferentiation of plastids. *Journal of Experimental Botany* 50 (340): 1683 – 1689.
- Zeng, X, Bai, L, Li, X, Xu, T, Yuan, H, Xu, Q, Zha, S, Wei, Z, Qimei, W, Basang, Y, Dunzhu, J, Yu, M and Nyima, T. 2019. Direct Submission. *JOURNAL Submitted* (16-JAN-2019) Genebang, Tianfu 5th Road, Chengdu, Sichuan 610094, China
- Zhou, C, Han, L, Pislariu, C, Nakashima, J, Fu, Ch, Jiang, Q, Quan, L, Blancaflor, EB, Tang, Y, Bouton, HJ, Udvardi, M, Xia, G and Wang, ZY. 2011. From Model to Crop: Functional Analysis of a STAY-GREEN Gene in the Model Legume *Medicago truncatula* and Effective Use of the Gene for Alfalfa Improvement. *Plant Physiology*, Vol. 157, pp. 1483–1496.
- FAO, 2020. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/>
- SIAP, SAGARPA. 2018. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>

CNVV. [https://datastudio.google.com/reporting/1dF79Fv3zreunXjSnY8dhRwDId8OHqWQh/page/MOvw?s=pODDOObv1\\_8](https://datastudio.google.com/reporting/1dF79Fv3zreunXjSnY8dhRwDId8OHqWQh/page/MOvw?s=pODDOObv1_8)  
SNP y SilicoDArt. <http://www.diversityarrays.com/>  
NCBI GenBank. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>  
Uniprot. <https://www.uniprot.org>  
EMBOSS. [https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss\\_transeq](https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq)  
CEDRSSA. <http://www.cedrssa.gob.mx/>

### **XIII. RESUMEN BIOGRÁFICO**

María Alejandra Torres tapia

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Manejo y Administración  
en Recursos Vegetales

Tesis: *CARÁCTER PRIMOGENITO DE STAY-GREEN, SU ESTABILIDAD E IMPORTANCIA EN LA CALIDAD DE CEBADA IMBERBE HORDEUM VULGARE (LINEO, 1753)*

Campo de Estudio: Facultad de Ciencias Biológicas

Datos Personales: Nacida en la Ciudad de México, el 24 de Septiembre de 1968, hija de Jorge Torres Alonzo y Josefina Tapia Pacheco.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, grado obtenido Maestra profesional en Tecnología de Granos y Semillas en 2004, con mención honorífica.

Experiencia Profesional: Maestra-investigadora de Tiempo Completo de la Universidad Autónoma Antonio Narro desde 2006, en el Centro de Desarrollo en Tecnología de Semillas del Departamento de Fitomejoramiento.

## Caracterización y agrupamiento de cebadas imberbes mediante sensores infrarrojos y rendimiento de forraje

María Alejandra Torres Tapia<sup>1</sup>  
Víctor Manuel Zamora Villa<sup>2§</sup>  
Modesto Colín Rico<sup>2</sup>  
Rahim Foroughbakhch Pournavab<sup>1</sup>  
Maginot Ngangyo Heya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas-Universidad Autónoma de Nuevo León. Ave. Pedro de Alba s/n cruz con Ave. Manuel L. Barragán, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. (atorres.tapia@hotmail.com; rahim.forough@gmail.com; nheyamaginot@yahoo.fr). <sup>2</sup>Departamento de Fitomejoramiento-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. CP. 25315. (modesto.colin@uaan.mx).

§Autor para correspondencia: zamora2602@yahoo.com.mx.

### Resumen

En el noreste de México es necesario tener variedades de cebada adaptadas a climas extremos como alternativa en la producción de forraje. Para la estimación de biomasa, existen sensores infrarrojos remotos que no han sido aplicados en cebadas forrajeras. Los objetivos fueron caracterizar, agrupar y seleccionar líneas de cebada forrajera imberbe, y estimar la asociación de sensores con el rendimiento. Se evaluaron 45 líneas contra variedades comerciales en dos municipios del estado de Coahuila, durante el otoño-invierno 2016-17; se realizó un diseño alfa-látice con tres repeticiones, se determinó rendimiento de forraje, altura de planta, etapa fenológica, y como sensores infrarrojos un termómetro IP-54, un GreenSeeker<sup>TM</sup> para índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) y un SPAD-420 para contenido de clorofila; evaluando en dos muestreos. Se realizó un análisis parcelas subdivididas para variables, correlaciones para estimación de relación y un análisis de multivariados por muestreo. Los resultados indicaron diferencias altamente significativas en rendimiento entre genotipos, localidades e interacciones. Las líneas 6, 43, 44, 40 y 1 presentaron características deseables de producción forrajera. El análisis de conglomerados a 75 y 90 dds retuvo cinco y siete grupos de interés respectivamente, marcando diferencias entre grupos en la prueba de T<sup>2</sup>, formando grupos diferentes en variedades comerciales y líneas. No se detectó una asociación positiva y significativa entre NDVI y rendimiento para los genotipos estudiados. Los métodos multivariados resultaron herramientas útiles para seleccionar líneas forrajeras de rápida producción. Afirmando a las cebadas como una buena opción para la producción forrajera en épocas invernales en zonas semiáridas, en comparación de avena y trigo.

**Palabras clave:** cebada sin arista, rendimiento de materia seca, NDVI.

Recibido: marzo de 2019

Aceptado: julio de 2019

## Introducción

Los cereales de invierno son una alternativa sostenible para la producción ganadera, debido al uso eficiente del agua a pesar de la creciente frecuencia de heladas por el cambio climático. Sin embargo, existe entre ellos una competencia de utilización en los sistemas intensivos pecuarios (Colín *et al.*, 2009; Calderón *et al.*, 2015). En México, la cebada además de ser el principal insumo en la industria cervecera tiene la alternativa de emplearse como forraje, para pastoreo, para ensilaje o para ser cosechado tanto en grano como en follaje verde (Newman y Newman, 2008; Zamora *et al.*, 2017).

La cebada tiene ventajas interesantes sobre otros cereales del mismo ciclo, es más vigorosa, resistente a sequía y a la salinidad, puede cultivarse en suelos marginales (Colín *et al.* 2007; 2009; Keles *et al.*, 2013; Wilson *et al.*, 2017). Se ha documentado que la cebada igual que otros cereales de invierno presenta altos rendimientos, son ricos en proteínas, vitaminas e hidratos de carbono (Cherney y Marten, 1982; Cash *et al.*, 2004) y en particular la cebada, no disminuye tanto su calidad forrajera en etapas posteriores a la antesis, probablemente debido a la mayor cantidad de grano (Colín *et al.*, 2007, 2009).

Para mantener o incrementar la producción de forraje de cebada, se requiere seleccionar nuevos genotipos, métodos de producción eficaces, sostenibles y que se adapten a los cambios climáticos (Nelson *et al.*, 2009), además se deben considerar características deseables para el productor en sistemas intensivos como: precocidad, altura de planta y alto rendimiento de forraje seco.

En la evaluación de la producción de biomasa o materia seca aérea, normalmente se realizan muestreos o cortes del forraje, pero recientemente se ha desarrollado un método de muestreo indirecto y no destructivo mediante el uso de sensores infrarrojos conocido como índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), teniendo un alto porcentaje de coincidencia con la producción en trigo y maíz (Verhulst *et al.*, 2010; Bastidas *et al.*, 2016); sin embargo, en cebada no se ha estudiado esta relación, tampoco con la temperatura del dosel y contenido de clorofila, ni la posible correlación entre estos y con la producción de biomasa total como en otras especies (Medina *et al.*, 2009; Freeman *et al.*, 2007; Chavez *et al.*, 2017; Castro *et al.*, 2011; Zajac *et al.*, 2013).

Esta investigación tuvo como objetivos el caracterizar, agrupar y seleccionar líneas de cebada forrajera sin aristas y estimar la asociación de sensores infrarrojos entre sí y con rendimiento de materia seca de esta especie.

## Materiales y métodos

Se estableció el estudio en dos localidades del estado de Coahuila de Zaragoza: Ejido San Lorenzo, Municipio San Pedro de las Colonias (localidad 1) y el Campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el Municipio de Zaragoza (Localidad 2), durante el ciclo otoño-invierno 2016-17. San Lorenzo se ubica a 25° 43' 26'' de latitud norte y 103° 09' 12'' longitud oeste, a una altitud de 1 090 msnm, con clima muy árido y semicálido, con temperatura entre 18 °C (mes más frío) y 22 °C (mes más caliente), lluvias de verano de 5 a 10% anual con 181 mm. La localidad de Zaragoza está ubicada a 28° 30' latitud norte y 100° 55' longitud oeste, con una altitud 360 msnm, con clima árido y cálido; temperatura media anual mayor de 22 °C, lluvias entre verano e invierno mayores a 18% anual entre 300 a 400 mm (Arriaga *et al.*, 2000).

Se evaluaron 45 líneas progenies de cebada forrajera imberbe, producto de la cruce entre la variedad GABYAN95 con la variedad comercial Esperanza, utilizando como testigos una avena (cv. Cuauhtémoc), una cebada maltera (cv. Cerro prieto), la cebada forrajera (cv. GABYAN95), un triticale de grano (cv. Eronga-83), adicionalmente una línea experimental de trigo (AN-266-99). Estos genotipos se establecieron en un diseño alfa-látice con tres repeticiones, considerando la parcela experimental de 5.4 m<sup>2</sup> (6 surcos de 3 m de longitud, espaciados a 0.3 m).

La preparación del terreno consistió en las labores tradicionales en las regiones, bajo condiciones de riego, realizando el barbecho, rastreo y nivelación, sembrando en seco, manualmente y a chorrillo, a una densidad de 100 kg ha<sup>-1</sup>. A la siembra se aplicaron 80 unidades de fósforo utilizando fosfato monoamónico (MAP) y 60 unidades de nitrógeno usando urea. En el primer riego de auxilio se aplicaron otras 60 unidades más de nitrógeno. Las malezas se controlaron con 2,4-D amina a una dosis de 1.5 L ha<sup>-1</sup>, no se aplicó fungicida o insecticida.

En ambas localidades se realizó un riego de siembra y tres riegos auxiliares. La lámina total aproximada durante el ciclo del cultivo fue de 40 cm. Se realizaron dos muestreos a 75 y 90 días después de la siembra, cortando con una hoz 50 cm de una hilera con competencia completa, seccionando a una altura aproximada de 5 cm sobre la superficie del suelo. Las muestras de forraje verde cosechado se colocaron en bolsas de papel y se secaron en una estufa de aire forzado a 65 °C por 48 horas, posteriormente se pesaron y se determinó el rendimiento de forraje seco en gramos (materia seca), transformando en toneladas por hectárea (REND), al momento del corte se registraron las variables: altura de la planta en centímetros (ALTURA), temperatura de dosel en grados Celsius (TEMP), índice de concentración de clorofila (ICC), índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) y la etapa fenológica (ETAPA) de acuerdo a la escala de Zadocks *et al.* (1974).

La TEMP se determinó con un termómetro infrarrojo IP-54, marca Fluke, con mira laser, señalando en la parte media de cada parcela experimental. Para medir el ICC, se utilizó un clorofilómetro SPAD-420, marca Konica Minolta, tomando la lectura en la parte media de 10 hojas banderas de cada parcela. El NDVI, se midió a través de un sensor portátil, marca GreenSeeker<sup>TM</sup>, evaluando en la parte central de cada parcela.

La información se analizó mediante un diseño de parcelas subdivididas con arreglo en bloques al azar, considerando las localidades como parcela grande, los muestreos como parcela mediana y los genotipos como parcela chica, las medias se compararon utilizando la prueba DMS al 0.05% de probabilidad mediante el uso del paquete SAS (SAS, 1989).

Posteriormente se obtuvieron las correlaciones fenotípicas entre pares de variables. Con las medias de los genotipos; a través, de las localidades, se realizaron análisis multivariados de componentes principales (ACP) y conglomerados (AC) para cada muestreo realizado, el análisis de componentes principales con el fin de reducir la dimensionalidad de los datos, detectar asociaciones entre variables y la caracterización parcial de los genotipos (Manly, 1986). Se realizó el análisis de conglomerados para conformar grupos de genotipos similares entre si y distintos a los de otros grupos, estos análisis se realizaron con el programa Statistica (Statistica, 1994), para decidir sobre la significancia entre los grupos generados se utilizó la prueba de T<sup>2</sup> de Hotteling (Jhonson y Wichern, 1988).



## Resultados y discusión

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre genotipos y localidades para TEMP, NDVI, ALTURA, ICC y REND; de igual forma en la interacción genotipos por localidad mostró diferencias altamente significativas en todas las variables mencionadas y en la interacción genotipos por muestreo en las variables ALTURA, ICC y NDVI se encontraron también diferencias ( $p \leq 0.01$ ), mientras que en REND y TEMP no se reportaron diferencias.

Al jerarquizar los factores y considerar las localidades como parcela grande al momento del análisis de datos, fue en reconocimiento a la importancia de las condiciones ambientales y su gran influencia en la producción (Shao *et al.*, 1995), sobre todo por cambios de temperatura que se pueden presentar en las áreas agrícolas, generando un impacto en la distribución, fenología y fisiología del cultivo y hasta en el rendimiento de los cultivos (Wahid *et al.*, 2007; Jarvis *et al.*, 2008), lo que pudiera haber sido el factor que provocó la diferencia significativa entre las localidades de evaluación.

Las diferencias entre los muestreos, reflejaron el efecto que el tiempo y fenología impusieron a los genotipos en la mayoría de las variables evaluadas excepto el REND, debido parcialmente por la precocidad de la especie de cebada (Colín *et al.*, 2007, 2009; Domínguez *et al.*, 2016), ya que en general se observó de un muestreo a otro, el incremento de TEMP, ALTURA, ICC y ETAPA combinado con menor NDVI, coincidiendo con otros autores que a etapas tempranas los valores de NDVI son bajos, llega a una etapa donde el valor maximiza y disminuye en etapas más tardías (Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007).

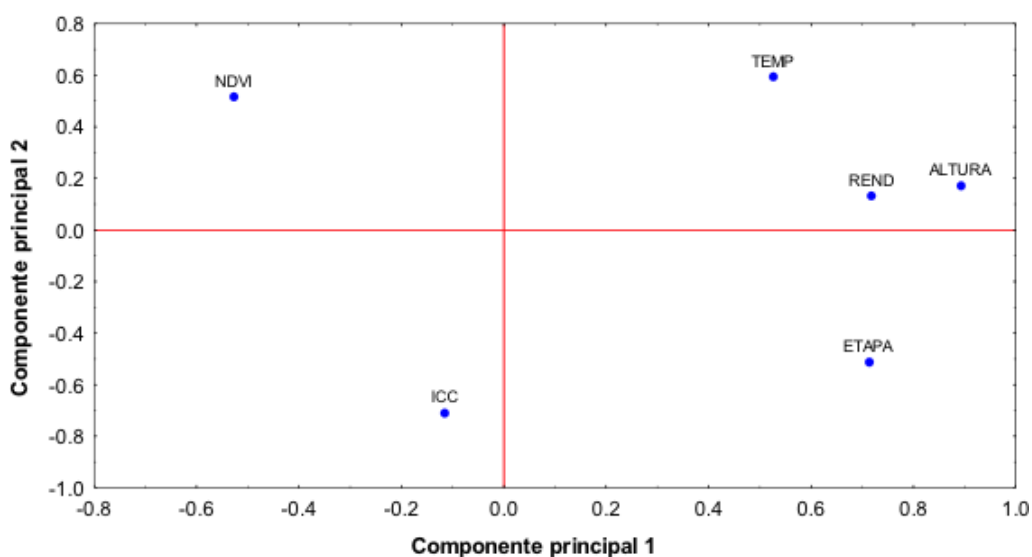
En las interacciones localidades por muestreo y localidades por genotipo se detectaron comportamientos diferenciales, refrendados por la significancia de la triple interacción sobre todo en NDVI e ICC evaluados con los sensores ópticos por primera vez en estos materiales forrajeros imberbes y que sugieren un estudio detallado de la interacción genotipo ambiente en estas variables. Las comparaciones de medias confirmaron que la localidad 1 (San Pedro de las Colonias, Coahuila), destacó por la mayor respuesta el REND, ETAPA, ICC y NDVI combinado con menor TEMP, mientras, que el efecto de la temperatura y otros factores del ambiente resultó más evidente en Zaragoza, Coahuila (localidad 2), posiblemente provocando una ligera degradación de la clorofila reflejado en los valores bajos del ICC obtenidos en esta localidad.

Es posible que la temperatura haya acelerado la fenología de los genotipos (Karsai *et al.*, 2008), lo cual se reflejó en los menores contenidos ICC, como se ha reportado en líneas mutantes de trigo duro (Spano *et al.*, 2003). Se conformaron 12 grupos de significancia para la variable TEMP, encontrando los genotipos 17, 5, 13, 1, 2, 3, 32, 4 y 25 con valores promedios por arriba de 24.2 °C, formando el primer grupo; similarmente se formaron 13 grupos en REND sobresaliendo los genotipos 43, 6, 44, 19, 25, 1, 11, 23, 2 y 21 con una producción entre 11.7-12.8 t ha<sup>-1</sup> dentro de los 25 genotipos del primer grupo, confirmando la amplia adaptación de la cebada (Nelson *et al.*, 2009), aún en condiciones áridas y semiáridas mencionadas por Sadeghpour *et al.* (2013), coincidiendo con Domínguez *et al.* (2016) en el alto índice de biomasa en cebada comparada con trigo y triticale.

Prosiguiendo con la comparación de medias, se obtuvieron 19 grupos tanto en NDVI como en ALTURA, destacando en la primera variable, los testigos trigo AN-266-99 y GABYAN95 con los valores más altos (0.79 y 0.76 de NDVI respectivamente), y en los genotipos 33, 32, 36, 35, 19, 6,

8, 29, 34 y 4 al haber mostrado alturas superiores de 107.92 cm, en el ICC reportó al testigo avena con el mayor índice (54.61 unidades Spad). La avena (cv Cuauhtémoc), trigo (AN-266-99) y triticale (cv Eronga-83) por su parte, presentaron mayor NDVI e ICC, pero menor REND.

Debido que en los sistemas intensivos de producción de forraje se requieren genotipos precoces y la diferencia entre muestreos reportada por el análisis de varianza, se analizó por separado la información de dos muestras usando métodos multivariados, el análisis de componentes principales (ACP) para el primer muestreo a 75 dds, explicó 63.82% de la varianza total con los dos primeros componentes principales (CP), el CP1 contuvo 39.95% de la varianza y con los dos primeros componentes se generó la Figura 1, permitió visualizar en el primer cuadrante una relación positiva de las variables TEMP, REND y ALTURA entre sí y positiva con ambos componentes, teniendo mayor asociación ALTURA (0.89) con el primer componente, seguido por REND y ETAPA.



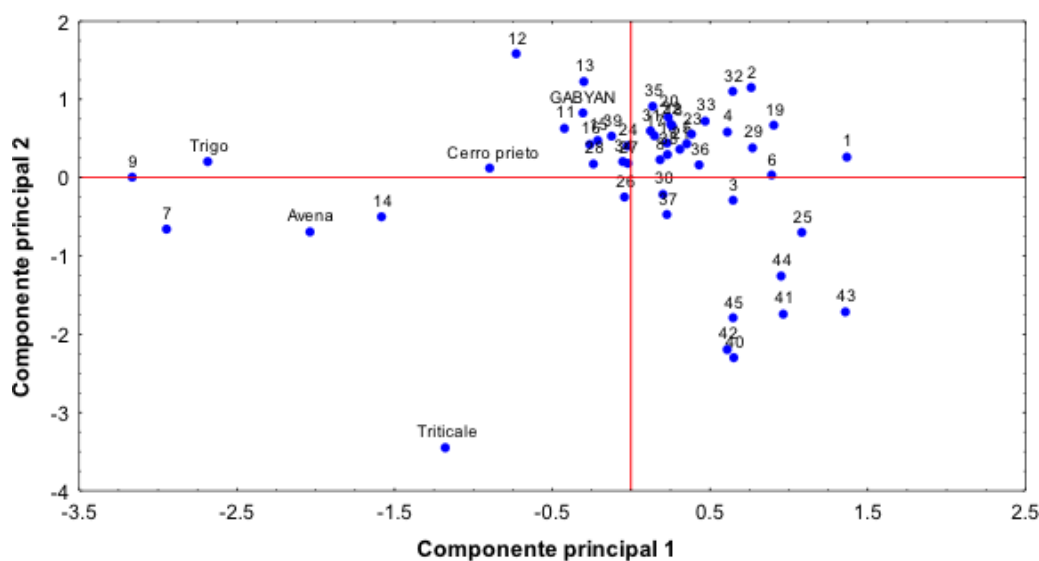
**Figura 1. Relaciones entre las variables evaluadas en el plano de los dos componentes principales en un primer muestreo (75 días).**

Esto sugiere que el CP1 es un componente de producción, precocidad y morfología, que puede realizar una separación entre los genotipos con mayor rendimiento de forraje seco, más precoces y altos que presentan también mayor temperatura del dosel, pero con menor NDVI e ICC.

El segundo CP separa genotipos más precoces y con mayor ICC de aquellos con mayor NDVI, TEMP, ALTURA y rendimiento de forraje seco. La relación detectada por este componente (CP2) sugiere la existencia de genotipos que pudiesen presentar el stay green, dado que a mayor etapa fenológica mantienen aún un contenido de clorofila alto.

Este ACP para el primer muestreo permitió detectar la relación inversa entre el rendimiento de materia seca y el NDVI que en otros cultivos se ha reportado positiva y significativamente relacionado con la producción de biomasa (Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007; Raun *et al.*, 2008); sin embargo, en cebada parece no ocurrir o verse muy afectada por la precocidad de ésta especie, lo cual pudiera relacionarse también con la menor cantidad de clorofila, tal como la ha sugerido Spano *et al.* (2003).

En la Figura 2, se visualizan los genotipos en el plano generado por los dos primeros CP, donde en el primer cuadrante los genotipos 1, 6, 19, 29, 32 y 33 entre otros, presentan el mayor rendimiento de forraje seco, altura de planta y temperatura, en el segundo cuadrante se ubicaron los genotipos 25, 37, 44, 41, 42, 43 y 45 siendo considerados los más precoces. En el tercer cuadrante se ubicaron los genotipos 7, 14 y los testigos triticale y avena presentando el mayor ICC; mientras avena y los genotipos 7 y 14 se ubicaron cercanos al siguiente cuadrante con valores altos de ICC y NDVI. En el cuarto cuadrante se ubicaron Cerro prieto, GABYAN95 y trigo, así como los genotipos 11, 12, 13, 16 entre otros, teniendo los mayores valores de NDVI, pero menos rendidores y tardíos a los 75 dds.



**Figura 2. Distribución de genotipos en el plano de los dos componentes principales en un primer muestreo (75 días).**

Algunas progenies de cebada forrajera mostraron ser superiores a su progenitor (GABYAN95) en TEMP, ALTURA, ETAPA y REND, lo cual permite la selección preliminar de genotipos como el 40, 41, 42, 43, 44, 45, 25 y 1, que con base a su producción son opciones potenciales para producir adecuada cantidad de forraje a los 75 dds. Se asienta una selección preliminar dado que falta conocer su composición nutricional y otros parámetros para hacer la selección final, aunque se ha definido la etapa de embuche para obtener una mayor calidad de forraje en los cultivos de cereales (Espitia *et al.*, 2012; Flores *et al.*, 2016), donde cebada no es la excepción (Colín *et al.*, 2007, 2009).

Con el fin de clarificar las relaciones detectadas por el ACP se realizaron correlaciones de Pearson entre pares de variables, las cuales mostraron que la ALTURA fue la variable que más se asoció con otras, pues mantuvo asociación positiva y significativa con la TEMP ( $r= 0.51$ ), con el REND ( $r= 0.61$ ) y con la ETAPA ( $r= 0.51$ ), pero se relacionó negativa y significativamente con el NDVI ( $r= -0.31$ ), confirmando las relaciones detectadas por el ACP plasmadas en la Figura 1, donde se apreció lo aquí mencionado. Para el ICC no se encontraron asociaciones significativas en esta etapa.

La ETAPA se asoció positiva y significativamente con el REND ( $r= 0.32$ ), pero negativa y significativamente con el NDVI ( $r= -0.51$ ). se puede establecer que, para este grupo de materiales, a los 75 dds el rendimiento de forraje está influenciado por mayor etapa fenológica, mayor altura de planta, mayor temperatura del dosel. Estos resultados reafirman lo reportado por Colín *et al.* (2007), respecto a la relación entre el REND, ALTURA y ETAPA encontrados en cebada.

Del análisis de conglomerados (AC) realizado a los 75 dds, se retuvieron cinco grupos, que la prueba de  $T^2$  declaró diferentes entre sí, los cuales que permitieron establecer que la avena y el triticale (Grupo 4), se comportaron muy diferente de las cebadas evaluadas, en tanto que el trigo se agrupó con los genotipos de cebada 7, 9 y 14 conformando el grupo 2, indicando un comportamiento similar.

En este aspecto el AC mostró ser una herramienta efectiva para separar estas especies e identificar genotipos de cebada con comportamiento similares. Por su parte, los testigos Cerro prieto y GABYAN95 se agruparon junto con 29 genotipos más de cebada forrajera imberbe en el grupo 1, otros 6 genotipos de cebada formaron el grupo 3 por poseer características muy similares, al igual que aquellos que integraron el grupo 5 (Cuadro 1). Todos los grupos fueron diferentes entre sí desde el punto de vista multivariado.

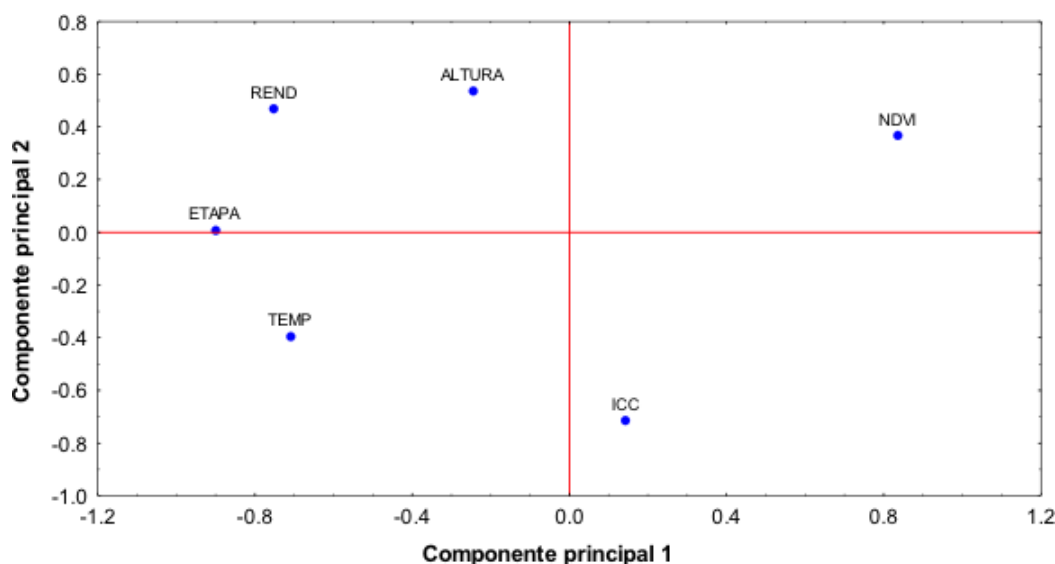
**Cuadro 1. Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados por el análisis de conglomerados a un primer muestreo de 75 días.**

Variable	Grupo 1 31	Grupo 2 4	Grupo 3 6	Grupo 4 2	Grupo 5 7
Temperatura	21.2 ±0.24	20.5 ±0.457	20.7 ±0.197	20.4 ±0.082	20.9 ±0.197
NDVI	0.8 ±0.009	0.81 ±0.012	0.78 ±0.008	0.8 ±0.065	0.78 ±0.009
Altura	98.5 ±3.867	65.8 ±8.305	98.8 ±2.97	85 ±0	98.9 ±2.955
ICC	42.67 ±1.365	43.26 ±1.98	45.57 ±1.023	51.97 ±0.46	41.69 ±1.104
Rendimiento	11 ±1.052	8.7 ±0.505	11.4 ±0.929	9.7 ±2.302	11.9 ±1.053
Etapa	43.9 ±1.777	37.3 ±2.872	54.8 ±2.23	39 ±5.657	43.6 ±0.787

Al analizar las características de los grupos, se pudo realizar una caracterización más completa de sus integrantes y con ello una selección preliminar, de forma que si se desean genotipos con mayor rendimiento de forraje y mayor altura de planta y una etapa de embuche, pudieran ser ideales los genotipos pertenecientes al grupo 5, pero si se deseara hacer un corte de forraje más temprano (menor de los 75 días), los genotipos del grupo 3 son aún más precoces, con un rendimiento de 11.4 t ha<sup>-1</sup> de forraje seco y la segunda mayor cantidad de clorofila. Estos dos grupos reúnen las características detectadas por el ACP relacionadas con un mayor rendimiento de forraje seco, objetivo primario en el mejoramiento de forrajeras.

Avena y triticale (grupo 1), se comportaron más tardíos que las cebadas, mostrando altura de planta y rendimientos aceptables, temperatura fresca y mayores contenidos de clorofila (ICC), aunque esto no se reflejó en un mayor valor de NDVI. Lo anterior, sustenta la afirmación de que las cebadas forrajeras representan una buena opción en la producción de forraje a un tiempo más corto que los testigos de otras especies, reafirmando la precocidad de la especie cebada (Domínguez *et al.*, 2016), siendo alternativa para la producción de forraje temprano en las zonas semiáridas (Colín *et al.*, 2007, 2009; Sadeghpour *et al.*, 2013).

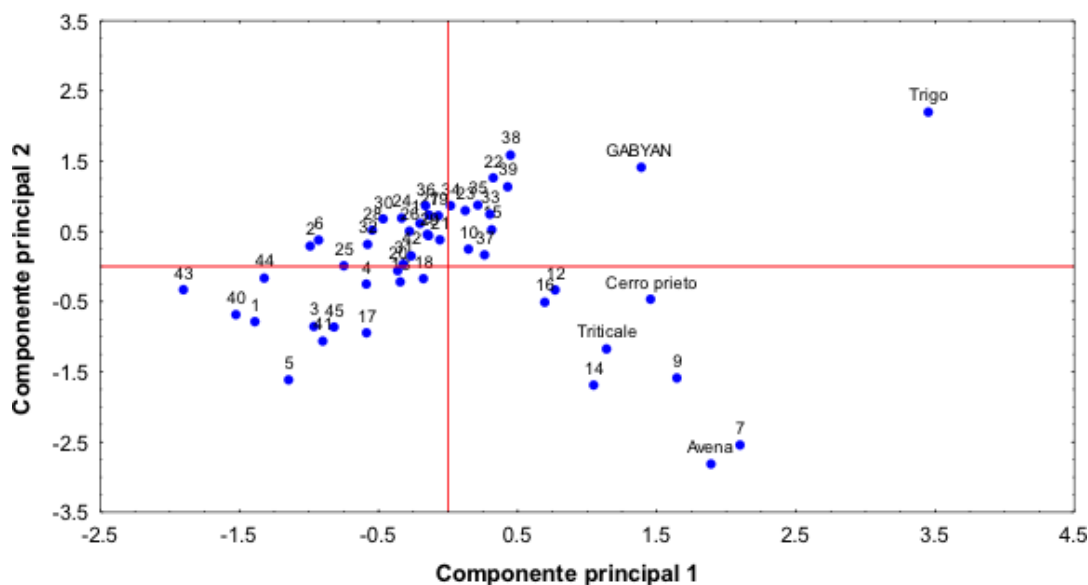
Para el segundo muestreo realizado a los 90 días, el ACP explicó 66% de la varianza total con los dos primeros componentes principales (CP). El primer CP contuvo 44.21% de la varianza, ubicando a la variable NDVI en el primer cuadrante con una relación positiva en ambos CP, en el segundo cuadrante se identificó al ICC con relación positiva en el CP1 y negativa con el CP2 (Figura 3). Este componente puede interpretarse como de rendimiento y apariencia, dado que del lado derecho identifica los genotipos de mayor verdor, pero ligados a menor rendimiento, altura, etapa y temperatura.



**Figura 3. Relaciones entre las variables evaluadas en el plano de los dos componentes principales en un segundo muestreo (90 días).**

El segundo componente contuvo 21.79% de la varianza y sugiere que la TEMP presentó una relación negativa con el resto de las variables ubicándola en el tercer cuadrante (Figura 3). En este segundo muestreo, se mantuvo la relación positiva entre el rendimiento de forraje seco (REND) con la ETAPA, ALTURA y TEMP reportadas en el primer muestreo. Se mantuvo también la relación negativa detectada por el ACP entre el NDVI y el forraje seco producido a los 90 dds, lo cual es contrario a lo reportado en otras especies (Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007; Raun *et al.*, 2008). Se reafirma que el primer CP es un componente de producción, precocidad y morfología.

La Figura 4 muestra los genotipos en el plano generado con los dos CP, para su respectiva caracterización parcial, así, ubicados en el primer cuadrante los testigos trigo y GABYAN95 y los genotipos 10, 15, 22, 23, 33, 34, 35, 37, 38 y 39, presentaron valores altos del NDVI a los 90 dds, mientras que en el segundo cuadrante se ubicaron aquellos de mayor contenido de clorofila, comprendiendo los testigos Cerro prieto, triticale, avena, además de los genotipos 7, 9, 12, 14 y 16. En este muestreo también se encontraron progenies que mostraron valores superiores al progenitor GABYAN95 en las variables de ETAPA, REND, ALTURA y TEMP, sobresaliendo genotipos como el 6, 43, 44, 40 y 1, resaltando que, excepto el genotipo 6, los genotipos restantes mantuvieron este comportamiento desde el primer muestreo, con la ventaja de no presentar aristas en la espiga (Flores, 1977; Colín *et al.*, 2009).



**Figura 4. Distribución de genotipos en el plano de los dos componentes principales en un segundo muestreo (90 días).**

En el tercer cuadrante se ubicaron a los genotipos 1, 4, 5, 17, 18, 19, 40, 43, 44 y 45 caracterizados por mayor TEMP y REND, ALTURA y ETAPA, en el cuarto cuadrante se encontraron el resto de los genotipos con valores de mayor REND, ALTURA y ETAPA. El trigo se ubicó en una posición distante del resto de los genotipos evaluados, presentando mayor NDVI, pero siendo más tardío (baja ETAPA) y con menor REND en comparación con las cebadas evaluadas, afirmando en ello, la relación que existe entre los rangos de NDVI, la fenología del cultivo y el rendimiento (De la Casa *et al.*, 2007; Grohs *et al.*, 2009; Lara y Gandin, 2015). Además, que en este segundo muestreo destacaron algunos genotipos de cebada forrajera imberbe como el 6, 2, 43, 44, 40 y 1 por presentar mayor rendimiento de forraje, altura de la planta y precocidad.

Las correlaciones estimadas en este segundo muestreo mostraron que todas las variables estudiadas se relacionaron significativamente con el rendimiento de forraje seco, así la ALTURA, ETAPA y TEMP se relacionaron positivamente con REND en magnitudes de  $r= 0.3$ ,  $r= 0.64$  y  $r= 0.29$ , respectivamente; pero se relacionó negativamente con el NDVI ( $r= -0.4$ ) y el contenido de clorofila ( $r= -0.34$ ). La TEMP tuvo una relación negativa y significativa con el NDVI ( $r= -0.63$ ), pero positiva y significativa la ETAPA ( $r= 0.48$ ).

Se resalta aquí la asociación negativa y significativa entre el NDVI con el REND ( $r= -0.4$ ), que en otras especies ha sido reportada como asociada positivamente con el rendimiento de materia seca (Teal *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2007; Raun *et al.*, 2008) y que justifica la realización de estudios específicos en cebada para determinar si el NDVI puede ser utilizado en la predicción de REND, dado que en este estudio solo se realizaron dos determinaciones del mencionado índice. Las correlaciones afirmaron los resultados del ACP y confirmaron la relación significativa y negativa entre el NDVI con el rendimiento de materia seca (REND), que desde el primer muestreo evidenciaba la mencionada relación.

En el segundo muestreo se retuvieron siete grupos de interés de los reportados por el análisis de conglomerados, ya que el AC ubicó al trigo como único integrante del grupo 5, separado del resto de los genotipos estudiados. Al igual que en el muestreo anterior, el testigo avena y triticale conformaron un grupo (grupo 4, del Cuadro 2) y fueron los de mayor ALTURA y ICC, menor REND y los segundos más tardíos después del trigo, el Grupo 7 lo conformaron la variedad Cerro prieto y las progenies 12 y 16 de cebada forrajera, con ALTURA similar al Grupo 1 pero con RENDbajo, en este muestreo las progenies 7, 9 y 14 se comportaron como cebadas tardías (grupo 2).

Al igual que en el primer muestreo, el AC en este segundo muestreo separó efectivamente a los testigos de otra especie, confirmando el comportamiento diferente de las cebadas forrajeras respecto a estos testigos y demostrando que el AC puede utilizarse como herramienta en la selección de genotipos. Los genotipos de cebada forrajera imberbe más rendidores y precoces se ubicaron en el grupo 1 (Cuadro 2), que a los 90 dds se encontraban en la etapa de grano lechoso, constituyéndose, así como uno de los grupos deseables para seleccionar, en tanto que el resto de las forrajeras imberbes se agruparon en los grupos 3 (mitad de la floración) y 6 (inicio de floración), estos últimos grupos con rendimientos similares.

Este diferencial en las etapas de las cebadas, además de mostrar parte de la variabilidad que posee la especie, representa opciones para la producción de forraje, pues comparativamente con la avena que se encontraba al inicio de espigamiento, puede significar el ahorro de un riego cuando se pretende cosechar el forraje con algo de grano (Colín *et al.*, 2009)

Otros como avena y triticale (grupo 4) se encontraban en una etapa de emergencia de espiga, con la mayor altura de planta, pero con bajos rendimientos de forraje. Se enfatiza la comparación de los nuevos genotipos contra la avena, dado que la avena sigue siendo la más utilizada en la producción de forraje invernal y se desea establecer que algunos genotipos de cebada son opciones viables para los esquemas intensivos de producción de forrajes. Si se desea seleccionar genotipos de cebada forrajera imberbe de más altura, el grupo 6 mostraron ser los más altos entre las cebadas, en este grupo se encontró la variedad GABYAN95 todos con buena precocidad, no tan avanzada que los grupos 1, pero similar al grupo 3 y más precoz que los grupos 2, 4, 5 y 7.

**Cuadro 2. Número de integrantes (n), media y desviación estándar de los grupos generados por el análisis de conglomerados en el segundo muestreo de 90 dds.**

Variable	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
	10	3	12	2	1	19	3
TEMP	27.3 ±0.317	26.8 ±0.357	27.3 ±0.34	26.7 ±0.507	25 ±0	26.7 ±0.27	26.5 ±0.328
NDVI	0.55 ±0.028	0.64 ±0.02	0.59 ±0.015	0.63 ±0.028	0.77 ±0	0.63 ±0.029	0.62 ±0.052
Altura	108 ±3.384	83 ±0.12	112 ±2.714	121 ±1.178	105 ±0	114 ±2.845	108 ±2.887
ICC	48.4 ±0.846	48.4 ±1.119	46.3 ±0.814	55.4 ±2.223	44.9 ±0	46.4 ±0.842	47.7 ±1.937
REND	11.9 ±1.053	8.5 ±0.962	10.8 ±0.682	7.9 ±1.406	9.4 ±0	10.8 ±0.504	8.4 ±0.472
Etapas	72.3 ±1.585	53.3±4.933	64.6±4.124	52.5±4.950	43 ±0	63.7±3.656	60.8±3.175

De nueva cuenta el análisis de conglomerados permitió una caracterización más completa de los grupos, coincidiendo con Colín *et al.* (2007) quienes ubicaron en diferente grupo tanto al cultivo de avena como al triticale. Se confirma lo reportado por Colín *et al.* (2009), respecto a que las cebadas forrajeras imberbes tienen más precocidad y rendimiento entre los cereales de grano pequeño.

Como se mencionó anteriormente, éste diferencial en las etapas fenológicas alcanzadas por las cebadas, además de mostrar parte de la variabilidad que posee la especie, representan opciones para la producción de forraje, pues comparativamente con la avena, puede significar el ahorro de un riego cuando se pretende cosechar el forraje con algo de grano, como ocurre en las explotaciones intensivas de las zonas semiáridas (Colín *et al.*, 2007; Sadeghpour *et al.*, 2013).

## Conclusiones

Se confirmó el efecto que imponen las localidades en la producción de forraje seco de los genotipos evaluados, así como el referente a las etapas de muestreo. Los métodos multivariados resultaron un apoyo eficiente para entender las relaciones entre variables y proporcionar una caracterización parcial de los genotipos evaluados, permitiendo inclusive seleccionar por características deseables. Entre los grupos formados existen genotipos imberbes de cebada forrajera deseables para la producción rápida de forraje en invierno como son 6, 43, 44, 40 y 1.

En los materiales evaluados no se detectó una asociación positiva entre el NDVI y la producción de forraje seco evaluado a través de los muestreos realizados en las localidades utilizadas. De acuerdo con este estudio, se observó que las cebadas forrajeras por su precocidad son una alternativa para la producción de forraje durante el invierno.

## Agradecimientos

Se hace un especial agradecimiento a la Universidad Autónoma Antonio Narro por el apoyo brindado en la realización de este trabajo de investigación. Asimismo, a la SEP-SES por el apoyo convencional nacional para estudios de doctorado núm. 6690/18.

## Literatura citada

- Arriaga, L.; Espinoza, J. M.; Aguilar, C.; Martínez, E.; Gómez, L. y Loa, E. 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) México, DF. 611 p.
- Bastidas, A.; Barahona, R. and Cerón, M. 2016. Variation in the normalized difference vegetation index (NDVI) in dairy farms in northern Antioquia. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 28, Article #43. Retrieved January 16, 2018, from <http://www.lrrd.org/lrrd28/3/bast28043.html>.
- Calderón, G. J.; Monterroso, R. A. y Gómez, D. J. 2015. Cambio climático en el centro de México: impacto en la producción de cebada (*Hordeum vulgare*) en Tlaxcala. *Ra Ximhai*. 11(5):37-46.
- Cash, S. D.; Staber, L. M. M.; Wichman, D. M. and Hensleigh, P. F. 2004. Forage yield, quality and nitrate concentration of barley grown under irrigation. Montana State University. 4 p.
- Castro, R. R.; Hernández, G. A.; Aguilar, B. G. y Ramírez, R. O. 2011. Comparación de métodos para estimar rendimiento de forraje en praderas asociadas. *Naturaleza y Desarrollo* 9(1):38-46.
- Chávez, C. E.; Paz, P. F. y Bolaños, G. M. A. 2017. Estimación de biomasa y cobertura aérea usando radiometría e imágenes digitales a nivel de campo en pastizales y matorrales. *Terra Latinoam*. 35(3):247-257.



- Cherney, J. H. and Marten, G. C. 1982. Small grain crop forage potential: I. biological and chemical determinants of quality, and yield. *Crop. Sci.* 22(2):227-231.
- Colín, R. M.; Zamora, V. V. M.; Lozano del R, A. J.; Martínez, Z. G. y Torres, T. M. A. 2007. Caracterización y selección de nuevos genotipos imberbes de cebada forrajera para el norte y centro de México. *Téc. Pec. Méx.* 45(3):249-262.
- Colín, R. M.; Zamora, V. V. M.; Torres, T. M. A. y Jaramillo, S. M. A. 2009. Producción y valor nutritivo de genotipos imberbes de cebada forrajera en el norte de México. *Téc. Pec. Méx.* 47(1):27-40.
- De la Casa, A. and Ovando, G. 2007. Normalized difference vegetation index (NDVI) and phenological data integration to estimate country yield of corn in Córdoba, Argentina. *Agric. Téc.* 67(4):362-371.
- Domínguez, M.; López, C. L. E.; Benítez, R. C. I. y Mejía, C. J. A. 2016. Desarrollo radical y rendimiento en diferentes variedades de trigo, cebada y triticale bajo condiciones limitantes de humedad del suelo. *Terra Latinoam.* 34(4):393-407.
- Espitia, R. E.; Villaseñor, M. H. E.; Tovar, G. R.; Olán, M. y Limón, O. A. 2012. Momento óptimo de corte para rendimiento y calidad de variedades de avena forrajera. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3(4):771-783.
- Flores, M. J. A. 1977. Bromatología animal. Edición Limusa. México. 1096 p.
- Flores, N. M. de J.; Sánchez, G. R. A.; Echavarría, Ch. F. G.; Gutiérrez, L. R.; Rosales, N. C. A. y Salinas, G. H. 2016. Producción y calidad de forraje en mezclas de veza común con cebada, avena y triticale en cuatro etapas fenológicas. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 7(3):275-291.
- Freeman, K. W.; Girma, K.; Arnall, D. B.; Mullen, R. W.; Martin, K. L.; Teal, R. K. and Raun, W. R. 2007. By-plant prediction of corn forage biomass and nitrogen uptake at various growth stages using remote sensing and plant height. *Agron. J.* 99(2):530-536. doi: 10.2134/agronj2006.0135.
- Grohs, S. D.; Bredemier, C.; Mundstock, M. C. y Poletto, N. 2009. Modelo para estimativa do potencial produtivo em trigo e cevada por medio do sensor GreeSeeker. *Eng. Agríc. Jaboticabal.* 29(1):101-112.
- Jarvis, A.; Lane, A. and Hijmans, R. 2008. The effect of climate change on crop wild relatives. *Agr. Ecosyst. Environm.* 126(1):13-23.
- Jhonson, R. A. and Wichern, D. W. 2007. Applied multivariate statistical analysis. 6<sup>th</sup> (Ed.). Upper Saddle River, NJ, USA. Prentice-Hall. ISBN 0-13-187715-1. 767 p.
- Karsai, I.; Szucs, P.; Kőszegi, B.; Hayes, P.M.; Casas, A.; Bedő, Z. and Veisz, O. 2008. Effects of photo and thermo cycles on flowering time in barley: a genetical phenomics approach. *J. Exp. Bot.* 59(10):2707-2715.
- Keles, G.; Ates, S.; Coskun, B. and Koc, S. 2013. Re-growth yield and nutritive value of winter cereals. Proceedings of the 22<sup>nd</sup> International Grassland Congress. Sídney Australia. ISBN: 9781742565439. 951-953. pp.
- Lara, B. Y. y Gandini, M. 2016. Caracterización del comportamineto fenológico de las coberturas vegetales en un sector de la Pampa Deprimida (Argentina): una aproximación utilizando series temporales de NDVI. *Ambiência Guarapuava (PR).* 12(14):765-783.
- Manly, B. F. J. 1986. Multivariate statistical methods: a primer. London: Chapman and Hall. London-New York. ISBN: 0-412-28610-6. 159 p.
- Medina, G.; Gutiérrez, R.; Echavarría, F.; Amador, M. y Ruiz, J. 2009. Estimación de la producción de forraje con imágenes de satélite en los pastizales de Zacatecas. *Téc. Pec. Méx.* 47(2):135-144.

- Nelson, C.; Rosegrant, M.; Koo, J.; Robertson, R.; Sulser, T.; Zhu, T.; Ringler, C.; Msangi, S.; Palazo, A.; Batka, M.; Magalhaes, M.; Valmonte-Santos, R.; Ewing, M. y Lee, D. 2009. Cambio climático: el impacto en la agricultura y los costos de adaptación. Instituto Internacional de Investigación sobre políticas alimentarias IPFRI. 30 p.
- Newman, R. K. and Newman, W. C. 2008. Barley history: relationship of humans and barley through the ages. *In*: Newman, R. K. and Newman, C. W. Barley for food and health. science, technology and products. John Wiley & Sons, Inc (Ed.). New Jersey. ISBN: 978-0-470-10249-7. 243 p.
- Raun, W. R.; Solie, J. B.; Taylor, R. K.; Arnall, D. B.; Mack, C. J. and Edmon, D. E. 2008. Ramp calibration strip technology for determining midseason nitrogen rates in corn and wheat. *Agron. J.* 100(4):1088-1093.
- Repková, J.; Brestič, M. and Olšovská, K. 2009. Leaf growth under temperature and light control. *Plant Soil Environ.* 55(12):551-557.
- Sadeghpour, A.; Jahanzad, E.; Esmaili, A.; Hosseini, M. B. and Hashemi, M. 2013. Forege yield, quality and economic benefit of intercropped barley and anual medic in semi-arid conditions: Additive series. *Field Crops Res.* 148(79):43-48.
- SAS. 1989. Institute Inc. SAS/STAT User's guide. Versión 6. Fourth edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shao, G. and Halpin, P. N. 1995 Climatic controls of eastern North American coastal tree and shrub distributions. *J. Biogeography.* 22(6):1083-1089.
- Spano, G.; Di Fonzo, N.; Perrota, C.; Platani, C.; Ronga, G.; Lawlor, D. W.; Napier, J. A. and Shewry, P. R. 2003. Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *J. Exp. Bot.* 54(5):1415-1420.
- Statistica, 1994. Statistica for windows (ver. 4.5) Tulsa Ok, USA: StatSoft, Inc.
- Teal, R. K.; Tubana, B.; Girma, K.; Freeman, K. W.; Arnall, D. B.; Walsh, O. and Raun, W. R. 2006. In-season prediction of corn yield potential using normalized difference vegetation index. *Agron. J.* 98(10):1488-1494.
- Verhulst, N.; Govaerts, B. y Fuentes, P. M. 2010. Sensor portátil GreenSeeker™ para la medición del índice diferencial de vegetación normalizado (NDVI): una herramienta para la evaluación integral de las prácticas agronómicas. Parte A: conceptos y estudios de caso. México, DF. Centro Internacional del Maíz y Trigo (CIMMYT). El Batán, Estado de México. 13 p.
- Wahid, A.; Gelani, S.; Ashraf, H. and Foolad, M. R. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environm. Exp. Botany.* 61(3):199-223.
- Wilson, G. C. Y.; Hernández, G. A.; Ortega, C. M. E.; López, C. C.; Bárcena, G. R.; Zaragoza, R. J. L. y Aranda, O. G. 2017. Análisis del crecimiento de tres líneas de cebada para producción de forraje, en el valle de México. *Rev. FCA UNCUIYO.* 49(2):79-92.
- Zadocks, J. C.; Chang, T. T. and Konzak, C. F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14(12):415-421. Doi:10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x.
- Zajac, C. C.; Vallejos, A. G.; Zajac, E. E. y Galantini, J. 2013. Análisis del rendimiento en cereales de invierno mediante mapas de rendimiento y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) en el Sudoeste Bonaerense, Argentina. *Chilean J. Agric. Anim: Sci., ex Agro-Ciencia.* 29(2):95-102.
- Zamora, D. M.; Pérez, R. J.; Huerta, A. R.; López, C. M.; Gómez, M. R. y Rojas, M. I. 2017. Maravilla: variedad de cebada forrajera para Valles Altos de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 8(6):1449-1454.