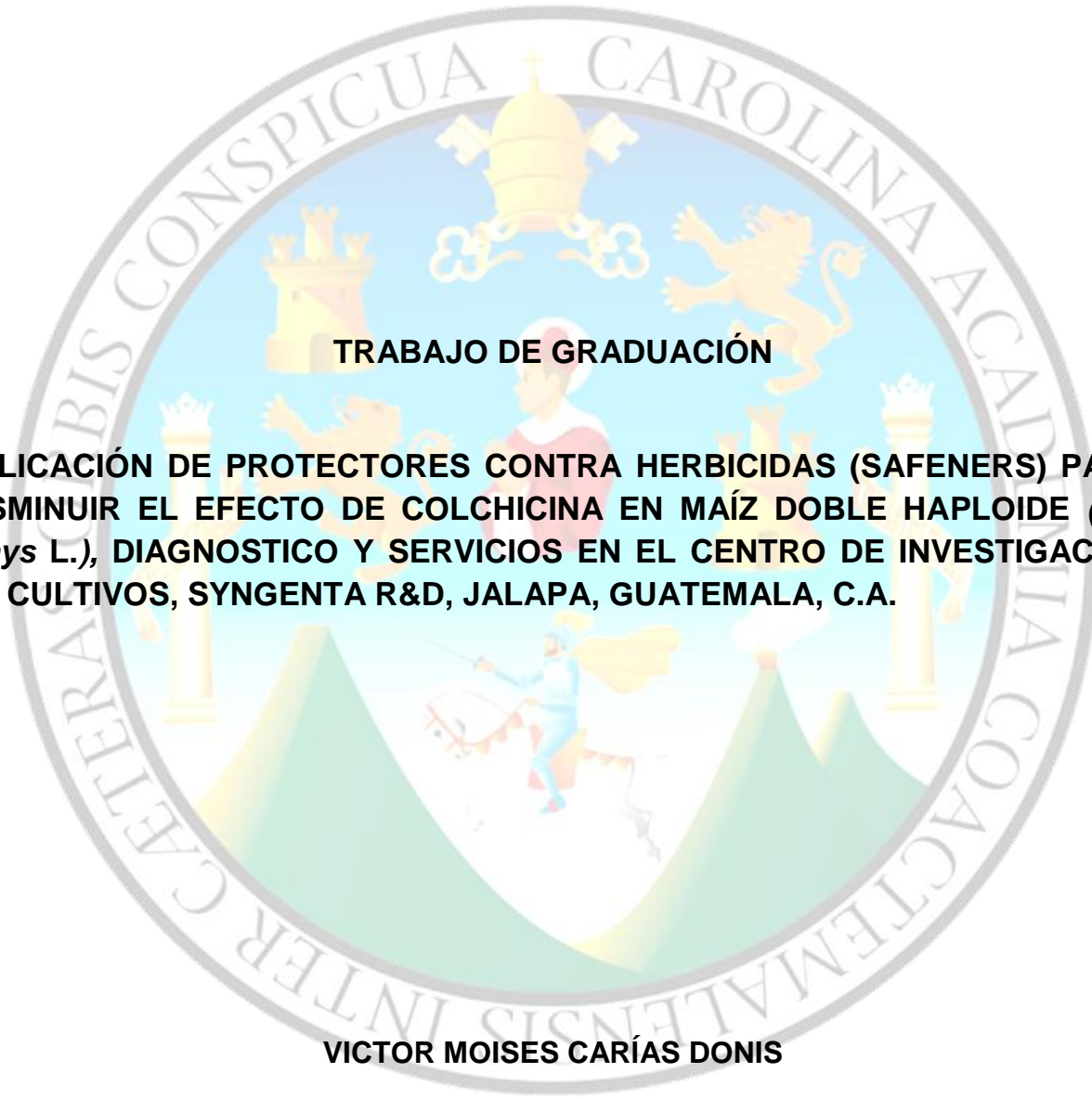


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA



TRABAJO DE GRADUACIÓN

APLICACIÓN DE PROTECTORES CONTRA HERBICIDAS (SAFENERS) PARA DISMINUIR EL EFECTO DE COLCHICINA EN MAÍZ DOBLE HAPLOIDE (*Zea mays* L.), DIAGNOSTICO Y SERVICIOS EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA R&D, JALAPA, GUATEMALA, C.A.

VICTOR MOISES CARÍAS DONIS

GUATEMALA, AGOSTO DE 2019

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA**

TRBAJO DE GRADUACIÓN

APLICACIÓN DE PROTECTORES CONTRA HERBICIDAS (SAFENERS) PARA DISMINUIR EL EFECTO DE COLCHICINA EN MAÍZ DOBLE HAPLOIDE (*Zea mays* L.), DIAGNOSTICO Y SERVICIOS EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA R&D, JALAPA, GUATEMALA, C.A.

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

VICTOR MOISES CARÍAS DONIS

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, AGOSTO DE 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

Ing. M. Sc. Murphy Olympo Páiz Recinos

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

Decano	Ing. Agr. Mario Antonio Godínez López
Secretario	Ing. Agr. Juan Alberto Herrera Ardón
Vocal I	Dr. Marvin Roberto Salguero Barahona
Vocal II	Dra. Gricelda Lily Gutiérrez Álvarez
Vocal III	Ing. Agr. Jorge Mario Granados Madrid
Vocal IV	P. Agr. Marlon Estuardo González Álvarez
Vocal V	P. Agr. Marvin Orlando Sicajau Pec

Guatemala, agosto de 2019

Guatemala, agosto de 2019

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación: “APLICACIÓN DE PROTECTORES CONTRA HERBICIDAS (SAFENERS) PARA DISMINUIR EL EFECTO DE COLCHICINA EN MAÍZ DOBLE HAPLOIDE (*Zea mays* L.), DIAGNOSTICO Y SERVICIOS EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA R&D, JALAPA, GUATEMALA, C.A.”, como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Victor Moises Carías Donis

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS

Porque aunque distante has guiado cada paso que doy y me has dado sabiduría.

MIS ABUELOS

Martín Donis Solares y María Lucía Dávila por enseñarme con ejemplos, bendecirme, cuidarme, brindarme cariño y sobre todo por la herencia del amor al trabajo.

TÍA ZONA Y TIO CHEPE

Por apoyarme aún en la distancia y por confiar en mí cuando emprendí este proyecto, por ser parte fundamental de lo que hoy soy.

MI MAMÁ

Ángela Donis, por quererme, apoyarme y brindarme su amor incondicional.

MIS TIOS

Alfonso Donis, Fausto Donis, María Delfina Donis, Francisco Oswaldo Donis, Miriam Donis.

MIS PRIMOS

Gustavo Donis, Esmeralda Donis, Carlos Donis, y las generaciones que vienen atrás para que sepan que los sueños se cumplen siempre y cuando no se duerman soñando.

MIS AMIGOS

A todos con quienes compartí a lo largo de este viaje, faltan líneas para nombrarlos pero en especial a Mario Aroche, Edgardo Quiñonez, Alex Sosa, Julia Castellanos, Adeldo Montenegro.

MI NOVIA

Cindy Garrido por animarme y motivarme a seguir adelante y por inspirarme.

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios porque en vos he encontrado la guía para salir adelante a pesar de las circunstancias y por hacerme un ganador.

Tía Zonia y Tío Chepe por todo el apoyo sentimental, moral, económico recibido de ustedes y por considerarme como su hijo, los amo.

Mi familia por el apoyo incondicional recibido de distintas maneras de cada uno de ustedes.

Universidad de San Carlos de Guatemala por acogerme durante estos años y mostrarme otro horizonte, más allá del que imaginaba.

Mis amigos Marito, Aguacate, Sosa, Juls, Angelita, Ivan , Gladys, Miriam, Hugo Hernandez, Herbert, Urizar, Pana, Jacobo, Toni, a mis compañeros de la sub-área de Ciencias Biológicas por el apoyo recibido en los retos de la vida universitaria.

Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D por permitirme ser parte de la organización y las enseñanzas de cada colaborador, sobre todo por el cariño, amistad y respeto que prevalece.

Mi asesor y supervisor por la paciencia, el tiempo dedicado para apoyarme en la elaboración de este documento.

ÍNDICE DE GENERAL

CONTENIDO **PAGINA**

CAPÍTULO I

DIAGNÓSTICO DE LAS ÁREAS DE MANEJO AGRONÓMICO Y ÁREA DE INDUCCIÓN DE DOBLE HAPLOIDÍA, EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA® R&D, JALAPA, JALAPA

- 1.1. PRESENTACIÓN.....2
- 1.2. MARCO REFERENCIAL.....3
 - 1.2.1. Ubicación geográfica3
 - 1.2.2. Vías de acceso3
 - 1.2.3. Infraestructura y tecnología.....4
- 1.3. OBJETIVOS.....5
 - 1.3.1. Objetivo general.....5
 - 1.3.2. Objetivos específicos5
- 1.4. METODOLOGÍA6
 - 1.4.1. Recopilación de información primaria6
 - 1.4.2. Recopilación de información secundaria.....6
 - 1.4.3. Descripción de la información recopilada6
- 1.5. RESULTADOS.....7
 - 1.5.1. Generalidades del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D.7
 - 1.5.2. Organigrama de Syngenta® R&D7
 - 1.5.3. Actividades generales de cada área9
 - 1.5.4. Análisis del área de manejo de cultivos y control de plagas y enfermedades (Agronomy)11
 - 1.5.5. Generalidades y descripción de las principales actividades del área de inducción de embriones haploides (área de inducción)17
- 1.6. CONCLUSIONES24
- 1.7. RECOMENDACIONES24
- 1.8. BIBLIOGRAFÍA25

CAPITULO II

APLICACIÓN DE PROTECTORES CONTRA HERBICIDAS (SAFENERS) PARA DISMINUIR EL EFECTO DE COLCHICINA EN MAÍZ DOBLE HAPLOIDE (ZEA MAYS L.) EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA R&D, JALAPA, GUATEMALA, C.A

- 2.1. PRESENTACIÓN.....28
- 2.2. MARCO TEORICO30
 - 2.2.1. Marco conceptual30
- 2.3. OBJETIVOS.....42
 - 2.3.1 Objetivo general.....42
 - 2.3.2 Objetivos específicos42

2.4. METODOLOGÍA	43
2.4.1. Proceso de producción de doble haploides.....	43
2.4.2. Método experimental	47
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
2.5.1. Altura promedio en el área de aclimatación	54
2.5.2. Porcentaje de sobrevivencia en área de aclimatación	56
2.5.3. Altura promedio de plantas en área de incremento de dobles haploides	57
2.5.4. Promedio de mazorcas por unidad experimental	59
2.6. CONCLUSIONES	62
2.7. RECOMENDACIONES	62
2.8. BIBLIOGRAFÍA	63

CAPITULO III

SERVICIOS REALIZADOS EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS (CIC) DE SYNGENTA R&D, JALAPA, DURANTE EL EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO FEBRERO, NOVIEMBRE 2016

3.1. PRESENTACIÓN.....	68
3.2. EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE TSUNAMI® DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE COLCHICINA EN EMBRIONES DE MAÍZ (<i>ZEAMAYS L.</i>) SOBRE EL IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN DE MAZORCAS DOBLE HAPLOIDES EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS DE SYNGENTA R&D	70
3.2.1. Problema	70
3.2.2. Objetivo	70
3.2.3. Metodología del proceso de producción.....	70
3.2.4. Metodología experimental.....	73
3.2.4. Análisis y resultados	77
3.2.5. Conclusiones	82
La aplicación de Tsunami® en los embriones doble haploides después del tratamiento de colchicina no tiene efecto negativo en la producción de mazorcas doble haploide.....	82
3.3. EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE DÍAS DE ACLIMATACIÓN Y POR CATEGORÍA DE PLANTAS DOBLE HAPLOIDES DE MAÍZ (<i>ZEAMAYS L.</i>) EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS DE SYNGENTA R&D.....	83
3.3.1. Problema	83
3.3.2. Objetivo	83
3.3.3. Metodología del proceso.....	84
3.3.4. Metodología experimental.....	85
3.3.5. Conclusiones	97
3.4. ANEXOS.....	98
3.4.1. Supuestos estadísticos de los análisis de varianza.....	98
2.8.1. Fotografías de los distintos procesos durante la evaluación	100
2.8.2. Cuadros de formatos para colecta de datos finales de la investigación	102

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Etapas fenológicas del maíz (<i>Z. mays</i> . L.)	34
2. Cantidad de plantas por material genético trasplantadas en campo definitivo en fase de inducción de doble haploides.	43
3. Concentraciones de los tratamientos de cada protector contra herbicidas.	45
4. Identificaciones de los materiales de maíz correspondientes al factor A.	49
5. Identificaciones, productos y dosis de los niveles correspondientes al factor B.	49
6. Tratamientos para la evaluación de protectores contra herbicidas.	50
7. Análisis de varianza para la variable altura de plantas en aclimatación	55
8. Resumen del análisis de varianza para la variable porcentaje de sobrevivencia en el área de aclimatación.	56
9. Resumen del análisis de varianza para la variable altura promedio de plantas en el área de incremento de dobles haploides	58
10. Resumen del análisis de varianza para la variable número promedio de mazorcas por unidad experimental	60
11. Análisis de varianza para la variable porcentaje de sobrevivencia.	78
12. Test de Tukey para el porcentaje de sobrevivencia de plantas de maíz, alfa =0.05, Diferencia mínima significativa =4.4836	79
13. Análisis de varianza para la variable número de mazorcas totales.	80
14. Test de Tukey para el número total de mazorcas, alfa =0.05, Diferencia Mínima Significativa = 5.15945	81
15. Resumen de análisis de varianza para variable número de mazorcas con más de 50 granos, los factores son días de hardening y categoría de plantas.	89
16. Resumen de la prueba de Tukey para la variable de respuesta número de mazorcas con más de 50 granos.	89
17. Resumen de prueba de Tukey de los factores de días y categorías para la variable de respuesta, número de mazorcas con más de 50 granos.	90
18. Resumen del análisis de varianza para la variable respuesta, número de mazorcas totales.	91
19. Resumen de prueba de Tukey para número de mazorcas totales.	91
20. Resumen de Tukey para las categorías, para la variable respuesta número de mazorcas con más de 50 granos	92
21A. Resumen de pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) de los residuos para las variables respuesta	98
22A. Formato de toma de datos en el área de aclimatación	102
23A. Formato de para recolectar datos en el área de cosecha y procesamiento	102
24A. Datos tabulados para el análisis de estadístico de la evaluación	104

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAGINA
1. Vista satelital del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D	3
2. Organigrama de la administración estructural del Centro de Investigación de Cultivos, Syngenta R&D.	8
3. Organigrama de evaluación biológica del Centro de Investigación de Cultivos.....	9
4. Organigrama del área de manejo agronómico de cultivos	11
5. Suelo después de realizar el proceso de aradura	13
6. Bomba marca Berkeley® acoplada a un motor Baldor® de 30 Hp	13
7. Inyector de solución nutritiva en el invernadero marca Dosatron®.....	15
8. Acumulación de sales en la capa superficial del suelo.....	16
9. Encharcamientos en el área de incremento de dobles haploides.....	16
10. Larva de Spodoptera spp. Encontrada en mazorcas en el área de incremento de dobles haploides	17
11. Organigrama del área de inducción de haploidía	18
12. Esquema de un bloque, sub bloque y marco de plantación en el área de inducción de dobles haploides	20
13. Inflorescencias de germoplasma después de realizar la actividad de despanojado	22
14. Muestreo de embriones en el germoplasma	23
15. Partes de un cariósipide de maíz (Z. mays L.)	33
16. Esquema estructural de la colchicina	38
17. Estructura química de cipro sulfamida	41
18. Unidad experimental constituida por 50 plantas.....	50
19. Croquis de aleatorización en parcelas divididas	51
20. Altura promedio de plantas en aclimatación de acuerdo con la combinación de producto y dosis.....	55
21. Porcentaje de sobrevivencia de plantas en el área de aclimatación	57
22. Altura promedio de plantas en fase de incremento de dobles haploides según los productos y dosis	59
23. Promedio de mazorcas por unidad experimental según los tratamientos evaluados.....	61
24. Croquis de campo de aleatorización de unidades experimentales.	76
25. Box plot de porcentaje de sobrevivencia en área de aclimatación de plantas de maíz.	78
26. Box plot para la variable respuesta número de mazorcas totales.	80
27. Croquis de campo para las 7 poblaciones bajo el arreglo en parcelas divididas.	88
28. Box plot para mazorcas con más de 50 granos respecto a las categorías.	92
29. Box plot para el total de mazorcas respecto a las categorías.	93
30. Box plot de mazorcas con menos de 50 granos respecto a las categorías	94
31. Box plot del total de mazorcas producidas respecto del número de días en aclimatación.	95
32. Box plot para número de mazorcas con más de 50 granos respecto del número de días en aclimatación.	95
33. Box plot de mazorcas totales, para la combinación de tratamientos.	96
34. Box plot para número de mazorcas con más de 50 granos	97
35A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: porcentaje de sobrevivencia.	98

36A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: altura de plantas en el área de aclimatación	99
37A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: altura de plantas en el área de incremento de dobles haploides	99
38A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: número de mazorcas en el área de incremento de dobles haploides	100
39A. Unidades experimentales identificadas en campo.	100
40A. Unidades experimentales en el área de aclimatación	101
41A. Plantas recién ingresadas al área de aclimatación, provenientes de laboratorio	101
42A. Contenedor con plantas provenientes de laboratorio después de haber pasado en proceso de doblaje cromosómico.	102

Resumen

En el presente documento se describen las actividades realizadas en el Ejercicio Profesional Supervisado –EPS- durante el periodo de febrero a noviembre del 2016 en el Centro de Investigación de Cultivos –CIC- de Syngenta R&D, ubicado en la cabecera departamental de Jalapa, como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola. El documento consta de tres partes, el diagnóstico, investigación y servicios.

El primer capítulo consta del diagnóstico, comenzando con las generalidades del lugar tales como su estructura organizacional, ubicación e infraestructura.

En el diagnóstico se describen las generalidades del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D, así como las áreas de manejo agronómico de plantas y el área de inducción de haploidía. Para obtener la información se realizaron recorridos en las instalaciones acompañado de la persona a cargo del área y realizando consultas directas. En esta parte se detallan las principales actividades de las áreas mencionadas anteriormente, además se proponen algunos puntos de mejora para las áreas, basados en la recolección y descripción y análisis de las actividades.

En el segundo capítulo se presenta la investigación realizada con el objetivo de evaluar dos protectores del efecto herbicida o *safeners*, (cipsulfamida y protector 5305287) contra el efecto de la colchicina, utilizado como inductor de doble haploidía en tres materiales de maíz, en fase de laboratorio e incremento de dobles haploides.

Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones y arreglo en parcelas divididas, distribuyendo en las parcelas grandes los tres materiales de maíz y en las parcelas pequeñas fueron aleatorizados los tratamientos (combinación de las moléculas protectoras contra el efecto herbicida con sus respectivas dosis).

Los resultados de las variables (Porcentaje de sobrevivencia en el área de aclimatación, altura de plantas en el área de aclimatación, altura de plantas en fase de incremento de dobles haploides, producción de mazorcas por unidad experimental) fueron sometidos a un análisis de varianza en el cual se demostró que no existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Con base a los resultados se concluyó que los protectores del efecto herbicida utilizados para esta evaluación en las respectivas dosis no tuvieron ningún efecto en las variables evaluadas.

En el tercer capítulo, se presentan los servicios realizados simultáneamente con el proyecto de investigación. Los servicios presentados son parte del programa del Centro de Investigación de Cultivos para mejorar la eficiencia de producción de dobles haploides.

El primer servicio fue la evaluación de aplicación del producto Tsunami® cuyo ingrediente activo es una mezcla de ácido acético, ácido paracético y peróxido de hidrógeno, este se aplicó después del tratamiento de colchicina en embriones de maíz y como este impacta en la producción de mazorcas de maíz doble haploides, este producto se utiliza como parte del plan profiláctico del laboratorio. Utilizando un diseño de bloques al azar, considerando en el factor A los diez materiales de maíz y en el factor B, dos tratamientos (Tratamiento 1: Enjuague con Tsunami®, Tratamiento 2: Enjuague sin Tsunami®). Con esta evaluación se determinó que la aplicación de Tsunami® no tiene ningún impacto negativo en la producción de semillas dobles haploides.

El segundo servicio fue la evaluación del número de días de aclimatación para las plantas doble haploides generadas en el laboratorio, considerando las categorías de las plantas como un factor adicional. Se utilizó un diseño de bloques al azar con siete repeticiones y arreglo en parcelas divididas, tomando en cuenta el factor A como el número de días de aclimatación y el factor B las categorías de las plantas seleccionadas según su tamaño. En esta evaluación se determinó estadísticamente que las plantas provenientes del laboratorio pueden pasar de quince a veinte días en el área de aclimatación para no reducir la producción de mazorcas doble haploides, también se determinó que las plantas categoría tres producen más semilla doble haploide por planta.

CAPÍTULO I

**DIAGNÓSTICO DE LAS ÁREAS DE MANEJO
AGRONÓMICO Y ÁREA DE INDUCCIÓN DE
DOBLE HAPLOIDÍA, EN EL CENTRO DE
INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS, SYNGENTA®
R&D, JALAPA, JALAPA**

1.1. PRESENTACIÓN

El presente documento consiste en el diagnóstico de las áreas de manejo agronómico (Agronomy) y el área de inducción de haploidía del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D, ubicada en el departamento de Jalapa, Jalapa, Guatemala.

El Centro de Investigación de Cultivos (CIC) de Syngenta R&D se dedica a la producción maíz doble haploide de maíz como parte del proyecto de desarrollo de nuevos materiales de maíz para Syngenta a nivel mundial, además del maíz hay otros cultivos como tomate, chile pimiento, soya entre otros vegetales. .

El Centro de Investigación de Cultivos (CIC) cuenta con dos áreas generales, por un lado se encuentra el área de administración de recursos, área encargada del reclutamiento de personal, compras de insumos almacenamiento de materiales y equipo, control de costos, seguridad integral del personal, compras de insumos, etc.

Por otro lado se encuentra la línea de administración de evaluación biológica, este departamento se encarga de la producción de semilla doble haploide que es parte del proceso de desarrollo de nuevos materiales comerciales, esta línea consta de seis departamentos: dirección de campos de maíz, administración de laboratorio, logística y embarque, vegetales, procesamiento de semillas y manejo agronómico.

Dentro de estos departamentos se realizó el diagnóstico de dos áreas, la primera el área de dirección de campos de maíz y dentro de este un sub-departamento el área de inducción de haploidía y por otro lado el departamento de manejo agronómico.

Como resultado del diagnóstico se obtuvo el organigrama general del Centro de Investigación de Cultivos y se describieron las principales actividades del área de manejo agronómico y el área de inducción de haploidía, dentro de cada área se hicieron entrevistas con personal de cada área diagnosticada.

1.2. MARCO REFERENCIAL

1.2.1. Ubicación geográfica

El Centro de Investigación de Cultivos (CIC), está ubicado a 5 km del municipio de Jalapa, cabecera departamental de Jalapa, departamento de la región oriental de la República de Guatemala, dentro de las coordenadas 14°35'42.38" latitud Norte y 89°57'56.75" longitud Oeste a 1356 m sobre el nivel del mar.



Fuente: Google Earth, 2016

Figura 1. Vista satelital del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D

1.2.2. Vías de acceso

La ruta de acceso más utilizada hacia el CIC desde la ciudad capital, abarca las carreteras, Jacobo Árbenz Guzmán, CA-9 N y CA-19, a una distancia de 102 km de la ciudad de Guatemala.

1.2.3. Infraestructura y tecnología

El CIC tiene una extensión de 41.04 ha con 14.34 ha bajo cubierta, el equivalente al 35 % del área total. Esta área incluye oficinas, almacenes, bodegas, invernaderos y otras instalaciones para la producción de maíz (Bolaños, 2014).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Conocer y describir las generalidades del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D y las áreas de manejo agronómico de plantas y el área de inducción de haploidía en el cultivo de maíz.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Describir las generalidades y organigrama del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D.
2. Conocer las principales actividades que realiza el área de manejo agronómico.
3. Conocer las principales actividades que se realizan en el área de inducción de haploidía en el cultivo de maíz.

1.4. METODOLOGÍA

1.4.1. Recopilación de información primaria

La recopilación de la información de las fuentes primarias consistió en una serie de actividades que incluyeron, la observación, entrevistas con el personal de campo (supervisoras, operarias, trabajadoras y encargados de campo) de las áreas diagnosticadas, recopilado de datos in situ sobre las aplicaciones de fertilizantes, el muestreo de plagas y enfermedades, aplicación de agua de riego del área de manejo agronómico, en el área de inducción la información se obtuvo a través de entrevistas abiertas sobre las principales actividades que se realizan, densidades de siembra, las etapas de la inducción de haploidia entre otras.

1.4.2. Recopilación de información secundaria

La recopilación de la información secundaria consideró la revisión bibliográfica de documentos que se han elaborado en el Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D anteriormente, además de investigación electrónica como parte del soporte de la información obtenida.

1.4.3. Descripción de la información recopilada

En esta fase se reunió la información recopilada iniciando por las generalidades de la empresa, tal como estructura organizacional, actividades generales y posteriormente se describieron las actividades principales del área de manejo agronómico y el área de inducción de haploidía.

1.5. RESULTADOS

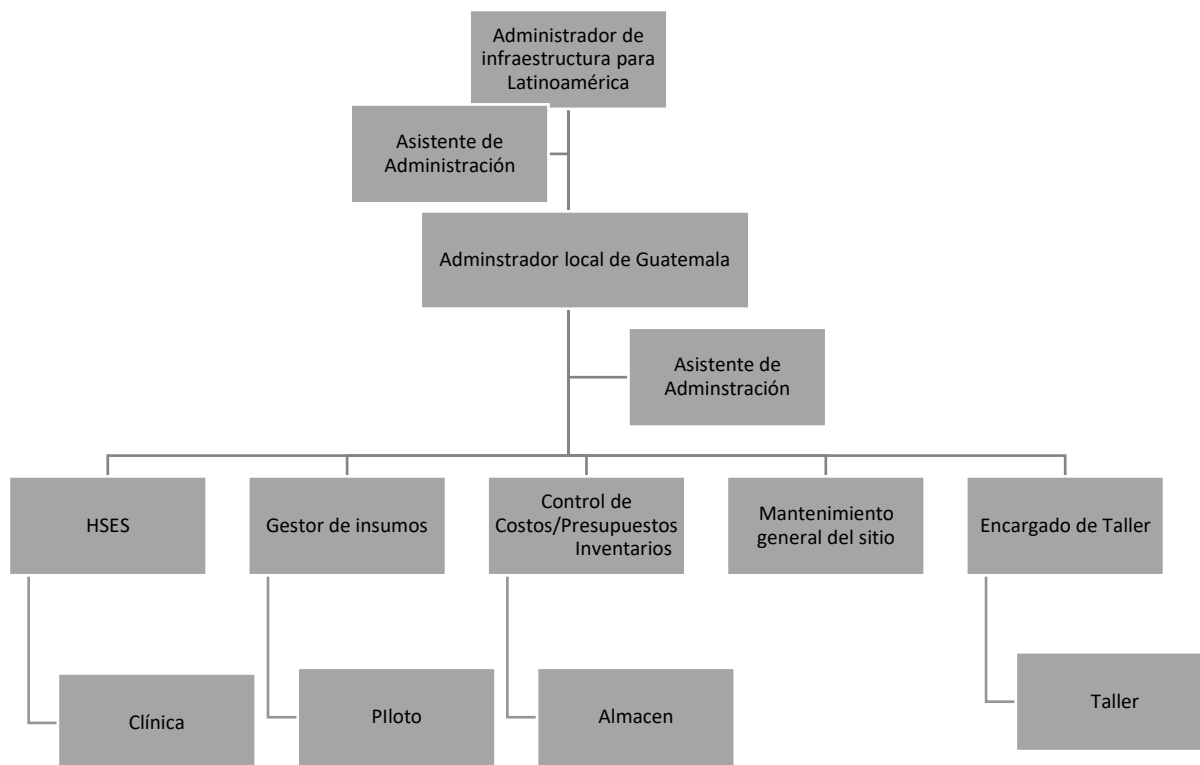
1.5.1. Generalidades del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta R&D.

El área de inducción de haploidía de maíz realiza la siembra y luego el trasplante del germoplasma proveniente de varias regiones del mundo, dicho germoplasma (parental femenino) se cruza con un material inductor (parental masculino), con la finalidad de provocar haploidía en alrededor de 14 % de los granos producidos en el parental femenino, además integra un marcador de antocianina para los granos diploides, lo cual sirve para distinguirlos de los haploides (Ozaeta M. , 2016). En esta área se cosechan las mazorcas cuando el tamaño de los embriones en los granos es alrededor de cinco milímetros de largo y se trasladan al laboratorio donde inicia la fase de producción de dobles haploidía.

El CIC tiene una extensión de 41.04 h con 14.34 h bajo cubierta, lo cual corresponde al 35 % del área total. Existen un total de 62 invernaderos, cada invernadero tiene una longitud de 90 m y 25 m de ancho (2,250 m²/invernadero), con una altura de 2 m hacia la zona de drenaje de la precipitación y 4 m en la parte central, orientados de este a oeste.

1.5.2. Organigrama de Syngenta® R&D

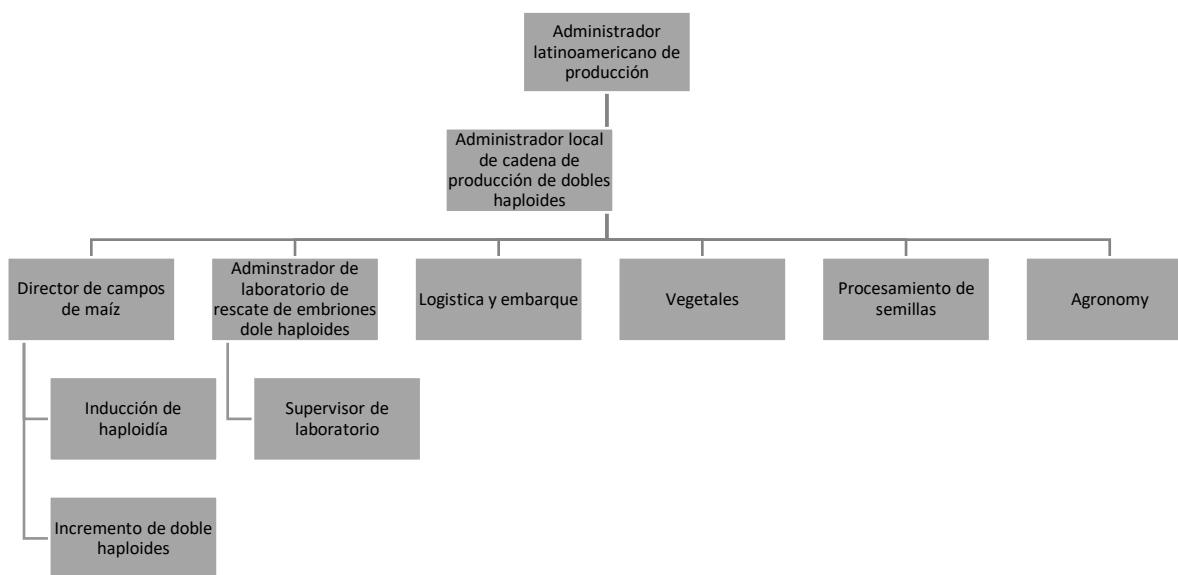
El Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta®, cuenta con dos áreas de administración, el área de administración de infraestructura, dicha administración se encuentra organizada como se muestra en el siguiente organigrama, básicamente se centra en el reclutamiento de personal, compras de insumos, almacenamiento de materiales y equipo, control de costos, seguridad integral del personal de operaciones y mantenimiento general de la finca (ver figura 2).



Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 2. Organigrama de la administración estructural del Centro de Investigación de Cultivos, Syngenta R&D.

La otra línea de administración es la parte que se encarga de los procesos de producción se conoce como el área de evaluación biológica, sin embargo el administrador general local es quien también dirige la parte de administración de infraestructura. A continuación se muestra el organigrama del área de evaluación biológica (ver figura 3).



Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 3. Organigrama de evaluación biológica del Centro de Investigación de Cultivos.

1.5.3. Actividades generales de cada área

Las áreas que se diagnosticaron son parte fundamental del Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta® R&D por las actividades que ahí se desarrollan. Las áreas son: el área de manejo de cultivo de maíz y manejo agronómico (Agronomy), básicamente esta área se dedica a todas las actividades concernientes al manejo agronómico del cultivo de maíz en las distintas áreas de la cadena de producción de dobles haploides de maíz, las áreas que abarca son el área de inducción de dobles haploides, el área de endurecimiento de plantas que provienen de laboratorio y el área de incremento de semillas dobles haploides, además del cultivo de maíz se involucran en las actividades de manejo agronómico de vegetales.

El área de inducción de haploidía de maíz realiza la siembra y luego el trasplante del germoplasma proveniente de varias regiones del mundo, dicho germoplasma (parental femenino) se cruza con un material inductor (parental masculino), con la finalidad de provocar haploidía en alrededor de 14 % de los granos producidos en el parental femenino, además integra un marcador de antocianina para los granos diploides, lo cual sirve para distinguirlos de los haploides (Ozaeta M. , 2016). En esta área se cosechan las mazorcas cuando el tamaño de los embriones en los granos es alrededor de cinco milímetros de largo y se trasladan al laboratorio donde inicia la fase de producción de dobles haploidía.

1.5.4. Análisis del área de manejo de cultivos y control de plagas y enfermedades (Agronomy)

En el área de manejo agronómico se encuentra organizado de la siguiente manera, después de los puestos que se encuentran en el organigrama, se encuentran los operarios (ver figura 4).

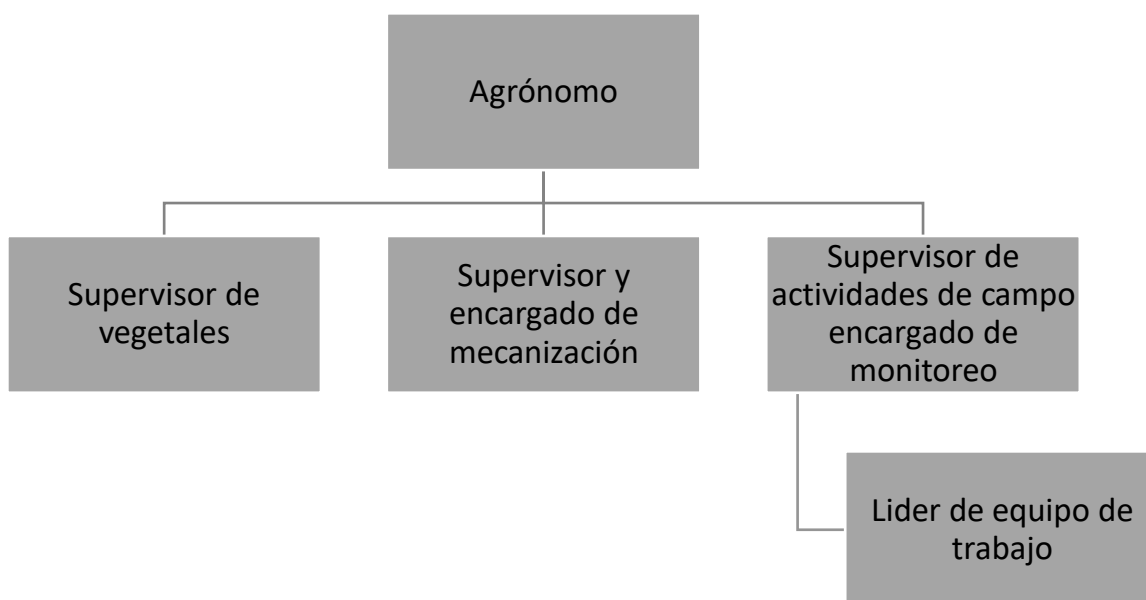


Figura 4. Organigrama del área de manejo agronómico de cultivos

El agrónomo es encargado de dirigir las actividades en general del área, luego hay tres personas, un supervisor del área de vegetales, un supervisor y encargado del área de mecanización agrícola, luego está un supervisor de actividades de campo, monitoreo de plagas y enfermedades monitoreo de variables del suelo, además dirige las actividades de ejecución de labores agrícolas.

A. Actividades que se realizan en el área de manejo agronómico

El área de manejo agronómico se dedica a realizar actividades en distintas áreas de producción de la finca, dentro de estas actividades se encuentran: la preparación de la tierra con algunas actividades de labranza primaria y secundaria previo al trasplante, elaboración de camellones para el trasplante, aplicaciones de enmiendas (Cal dolomítica, $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), instalación del sistema de riego, fertirrigación y fertilización granulada, monitoreo y control de plagas y enfermedades y riego.

a. Preparación de la tierra

En esta fase se realizan actividades de labranza primaria y secundaria (ver figura 5), estas actividades incluyen:

1. Subsulado: en algunos casos se realizan estas actividades con el fin de mejorar el aireamiento interno del suelo y romper las capas profundas
2. Arado: se realiza con el fin de voltear las capas internas del suelo, profundiza aproximadamente 40 cm.
3. Azadón rotativo (Tiller): con el fin de mear los terrones de deja la labranza primaria se utiliza el azadón rotativo para preparar la cama de siembra.
4. Surcadora: se utiliza con el fin de elaborar los camellones donde se trasplantará.



Figura 5. Suelo después de realizar el proceso de aradura

b. Área de inyectores y riego

El área destinada a la distribución de agua para riego y fertirrigación cuenta con tres sistemas hidroneumáticos con una bomba de 30 HP para cada uno de los sistemas. (ver figura 6)

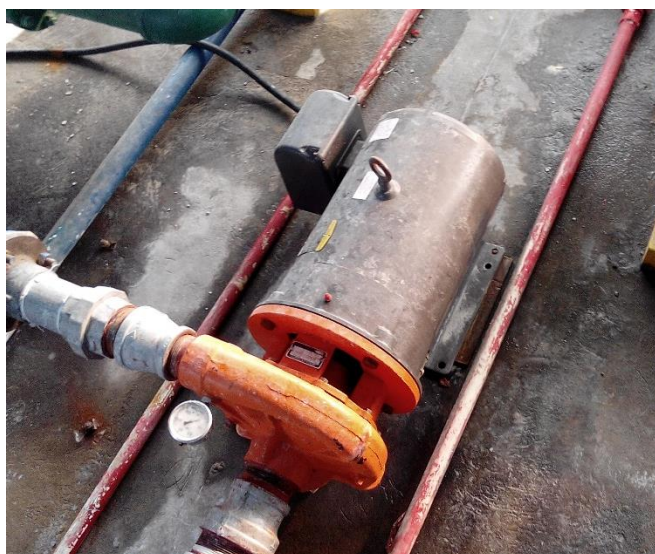


Figura 6. Bomba marca Berkeley® acoplada a un motor Baldor® de 30 Hp

Además se utilizan dos soluciones madre para suplir las necesidades nutricionales de los cultivos las cuales se preparan en el tanque 1 y tanque 2, el tanque 1 contiene los siguientes compuestos:

1. Nitrato de calcio
2. Nitrato de potasio
3. Bioestrene®
4. Nitrato de amonio

La solución del tanque uno posee de nitrógeno 397.4 ppm, de K_2O 175 ppm, de CaO 400 ppm y de hierro 1.7 ppm. Se utiliza una relación de 1:224 para diluir la solución madre al inyectarse en el agua que se conduce a los invernaderos.

Los compuestos comerciales utilizados en la solución 2 para la fertirrigación en CIC, son:

1. Sulfato de potasio
2. 12-61-0
3. Sulfato de magnesio
4. Micro Mix®
5. Peter STEM®
6. Bortrax®
7. Ácido sulfúrico

La solución 2 aporta 25.19 ppm de N, 128 ppm de P_2O_5 , 198 ppm de K_2O , 96 ppm de MgO , 225 ppm de S, 1.6 ppm de Mn, 0.46 ppm de Cu, 0.7 de B, 0.13 ppm de B, 0.9 ppm de Zn y 1.5 de Fe.

Esta solución se aplica de manera generalizada en los invernaderos a razón de 700 cc en cada emisor independiente del estado fenológico de la planta, esto se realiza de dos a tres veces por día por invernadero, lo que sería equivalente a aproximadamente 20 mm de agua por día, además de realizar aplicaciones con urea 4 g/L a través de un sistema de inyección marca Dosatron® (ver figura 7), estas actividades se realizan todos los días. Las aplicaciones granuladas incluyen triple 15 y urea para corregir deficiencias. El control de las aplicaciones de riego está en función de la conductividad eléctrica del suelo.



Figura 7. Inyector de solución nutritiva en el invernadero marca Dosatron®

Considerando lo anterior se detectó un problema en el manejo de la fertilización, en la superficie de los suelos se observa acumulación de sales en la superficie del suelo dentro de los invernaderos, en la figura 8 se muestra con más detalle.



Figura 8. Acumulación de sales en la capa superficial del suelo

Además de la cantidad de sales, otro problema detectado fue exceso de agua en el riego, en función, la lámina aplicada diariamente es de aproximadamente 20 mm/d, en la figura 9 se muestra el exceso de humedad.



Figura 9. Encharcamientos en el área de incremento de dobles haploides

c. Monitoreo de plagas y enfermedades

El monitoreo de plagas y enfermedades se realiza por invernadero, muestreando 12 puntos y cuatro plantas por cada punto, en zigzag y las aplicaciones fitosanitarias se realizan tres veces por semana, en base a los datos recopilados en los muestreos. En la figura 10 se muestra el daño causado por una de las principales plagas del centro, para esta plaga se utiliza como ia Benzoato de emamectina (Proclaim ® 05 SG).



Figura 10. Larva de Spodoptera spp. Encontrada en mazorcas en el área de incremento de dobles haploides

1.5.5. Generalidades y descripción de las principales actividades del área de inducción de embriones haploides (área de inducción)

El área de inducción es el inicio del proceso de producción de maíz doble haploide, aquí se induce la haploidía en las líneas de maíz que se quieren derivar a través de una polinización controlada.

A. Organigrama del área de inducción de embriones haploides

En el área de inducción de haploidía se encuentra organizada como se muestra la figura 11, la cual está constituida por un agrónomo del área, una encargada de supervisar las actividades generales del área, una asistente de la encargada además colecta información, luego se encuentra una líder del equipo de operarios del área.

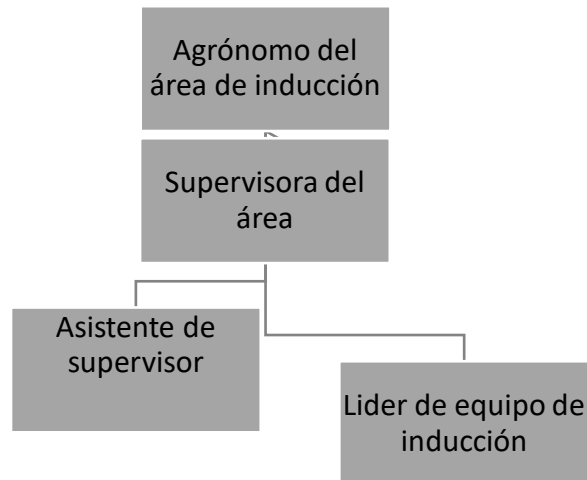


Figura 11. Organigrama del área de inducción de haploidía

B. Actividades del área de inducción de haploidía

Según Prasana, Chaikam, & Mahuku (2013) indican que la tecnología de dobles haploides, basada en la inducción de haploidía *in vivo*, es reconocida a nivel mundial como una herramienta importante para aumentar la eficiencia del mejoramiento, además citan que esta tecnología ventajas respecto al mejoramiento convencional y todas apuntan hacia la reducción del tiempo invertido en la obtención de líneas completamente homocigotas en dos generaciones lo cual implica la reducción de los recursos utilizados.

La primera fase de la producción de dobles haploides implica la inducción de haploidía en los materiales de interés a través de la cruce con un inductor (parental masculino) y luego los granos se cosechan cuando los embriones tienen un tamaño de aproximado de 5 mm, para pasar a la siguiente fase. A continuación se describen las actividades que se realizan en el área de inducción de haploidía:

a. Siembra de germoplasma e inductor

La actividad inicial es la siembra de germoplasma, el germoplasma se entiende como el material genético que los mejoradores envían al centro de investigación para que se deriven a partir de ellos líneas puras de maíz y se incremente la cantidad de semillas, además del germoplasma se siembra un inductor (parental masculino).

Según (Prasana, Chaikam, & Mahuku, Tecnología de dobles haploides en el mejoramiento de maíz: Teoría y Práctica, 2013) un inductor es una cepa genética especializada que al cruzarse con una planta diploide normal de maíz (en este caso el germoplasma de interés), produce granos en una mazorca con segregación de granos diploides ($2n$) y una cierta fracción de granos haploides (n), a causa de la fertilización anómala.

La siembra se realiza con una relación de 1 semilla de inductor por 2 semillas de germoplasma, la siembra del inductor se distribuye sembrando el 25 % antes de la siembra del germoplasma, el 50 % se siembra junto con el germoplasma y el 15 % se siembra después de sembrar el germoplasma. Para que estén listas a trasplante las plántulas pasan 12 d desde la siembra.

b. Trasplante

El trasplante se realiza en el campo definitivo bajo condiciones protegidas, se trasplantan en bloques de 10 m x 9 m de ancho y largo respectivamente, dividido en dos sub-bloques de 4.5 m x 9 m, ancho y largo respectivamente, cada sub-bloque está dividido por una calle de 0.5 m, en la figura 12 se muestra con detalle el bloque, los sub-bloques, las calles y el marco de plantación.

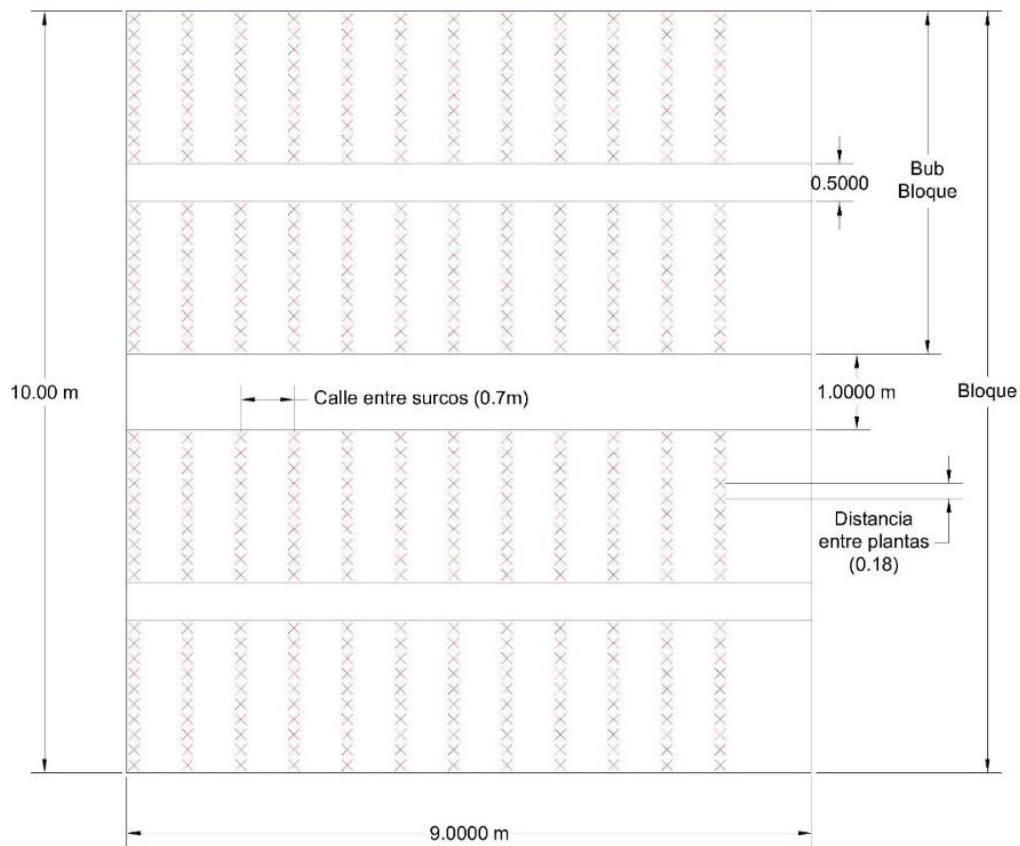


Figura 12. Esquema de un bloque, sub bloque y marco de plantación en el área de inducción de dobles haploides

c. Despanojado

Después de haber trasplantado la siguiente actividad es el despanojado, que consiste en la eliminación de la inflorescencia masculina en el germoplasma, el tiempo que se llevará desde el trasplante hasta esta actividad depende de varios factores, en el área se clasifican los materiales en precoces, intermedios y tardíos en función del tiempo, además de la época del año; en épocas donde la temperatura desciende dígame meses como noviembre, diciembre y enero, se prolonga en general la fenología del maíz y viceversa en los meses calurosos.

En materiales considerados tardíos esta actividad se realiza aproximadamente a 50 d después del trasplante, considerando las épocas más frías del año, entre noviembre y enero. Mientras que en materiales precoces esta actividad se realiza aproximadamente a los 35 días después del trasplante, en figura 13 se muestran las inflorescencias después de la actividad de despanoje, esta actividad se realiza para evitar autopolinización en el germoplasma o polinización cruzada entre distintos germoplasmas.



Figura 13. Inflorescencias de germoplasma después de realizar la actividad de despanojado

d. Colocación de Glassine (Shootbags)

La actividad consiste en la colocación de una bolsa cubierta con cera en la inflorescencia femenina (jilote), el lapso para colocar dicha bolsa varía por el efecto de la época del año y el tipo de material genético, en materiales tardíos en épocas frías tarda aproximadamente 59 d después del trasplante, mientras que en materiales precoces tarda aproximadamente 37 d, esta actividad se realiza con el fin de evitar autopolinización o polinización cruzada por parte de otros materiales genéticos.

e. Polinizado

La actividad de polinizado consiste en la cruce del inductor con el germoplasma, siendo el inductor el portador del polen y es quien induce la haploidía en una fracción de los granos en el germoplasma además de insertar un gen marcador con antocianinas que pigmenta los granos y los embriones que son diploides (condición $2n$) únicamente, siendo esta la característica que se utiliza a nivel de laboratorio para seleccionar únicamente los embriones haploides, sin embargo la eficiencia de extracción y selección es del 13.33 % (Ramirez, 2016), en otras palabras de para extraer 13 embriones haploides se deben extraer alrededor de 100 embriones totales, la razón es porque los embriones no se pigmentan desde el campo y estos deben extraerse para después someterlos a luz para que pigmenten posteriormente a la extracción.

f. Cosecha

La cosecha en el área de inducción a diferencia de una cosecha convencional no se realiza hasta que las plantas hayan llegado a madurez fisiológica, las mazorcas del germoplasma se cosechan tomando como referencia el muestreo del tamaño de los embriones un 10 % de la población, el tamaño considerado adecuado para la cosecha son 5 mm, tal como se muestra en la figura 14.



Figura 14. Muestreo de embriones en el germoplasma

1.6. CONCLUSIONES

1. El Centro de Investigación de Cultivo cuenta con seis departamentos administrativos, el área de administración e infraestructura y el departamento de producción de dobles haploides.
2. Las principales actividades desarrolladas en el área de manejo agronómico son: preparación de suelo, manejo de nutrición, manejos culturales, control fitosanitario y riego.
3. Las principales actividades del área de inducción de haploidía son: siembra de materiales genéticos e inductores, posterior a la siembra se aíslan las inflorescencias femeninas y se emasculan los materiales genéticos, por otro lado el inductor de haploidía se aísla la inflorescencia masculina para colectar polen, finalmente se induce la haploidía a través de polinización cruzada controlada, el inductor provee el polen y el material genético es receptor (generación de haploidía).
4. Dentro de los problemas detectados como puntos de investigación y mejora en el área de manejo agronómico están: el monitoreo y manejo de la salinidad del suelo, monitoreo y control de los sistemas de riego, sistematización del monitoreo de plagas y enfermedades.

1.7. RECOMENDACIONES

1. Elaborar formatos para el control de las actividades de preparación de suelo y elaborar gráficas del comportamiento de variables como salinidad, compactación del suelo, contenido de agua, en la parte nutricional, hacer análisis de tejido foliar cada 3 ciclos de cultivo. Evaluar el contenido de nitrógeno, fosforo y potasio que se aplica por ciclo de cultivo y balancear en función del requerimiento nutricional del cultivo.
2. Realizar mediciones periódicas de salinidad y desarrollar prácticas enfocadas a la reducción de la misma, distintas a los lavados profundos.
3. En el área de inducción de haploidia la rotación de personal en las distintas actividades del área sería importante para capacitar al personal en las distintas actividades del área.

1.8. BIBLIOGRAFÍA

1. Bolaños González, F. C. (2014). *Evaluaciones y activades realizadas en maíz (Zea mays L.) doble haploide en el Centro de Investigaciones de Cultivos (R&D), Syngenta, Jalapa, Jalapa. (Informe Prácticas Agr. Forest. Supervisadas)* . Guatemala: ENCA.
2. Coe, E., & Sarkar, K. (1964). The detecion of haplods in maize. . *Journal of Heredity*, 55 (5), 231–233.
3. Faiguenbaum Morgenstern, H. M. (1999). *Partes de una planta de maíz*. Obtenido de Biología de cultivos anuales; morfología y estados de desarrollo en cereales, leguminosas, papa y remolacha: http://www7.uc.cl/sw_educ/cultivos/index6.htm
4. Lobos, A. (2016). Manejo agronómico del Centro de Investigación de Cultivos. (V. M. Donis, Entrevistador)
5. Marroquín, A. (2016). Manejo de nutrición en plantas de maíz doble haploides, monitoreo de plagas y generalidades del área de Agronomía. . (V. M. Donis, Entrevistador)
6. Ministerio de Educación de España. (2010). *Nutrición vegetal*. Obtenido de Blog del proyecto Biosfera: http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/1bachillerato/reino_vegetal/contenidos3.htm
7. Ozaeta, M. (1 de Febrero de 2016). Producción de dobles haploides . (V. M. Carías, Entrevistador)
8. Ozaeta, M. R. (2016). La inducción de haploidía. (V. M. Donis, Entrevistador)
9. Paliwal, R. L. (2001). *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y Producción* . Roma, Italia : Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación .

10. Paliwal, R. L. (2001). *Mejoramiento del maíz híbrido*. Obtenido de El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Italia, FAO: http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s16.htm#P0_0
11. Universidad de Navarra. (2008). *Cambios cromosómicos numéricos*. Obtenido de Universidad de Navarra: <http://www.unavarra.es/genmic/genetica%20y%20mejora/cambios%20cromosomicos/Cambios%20cromosomicos%20numericos%20II.htm>

CAPÍTULO II

**APLICACIÓN DE PROTECTORES CONTRA
HERBICIDAS (SAFENERS) PARA DISMINUIR
EL EFECTO DE COLCHICINA EN MAÍZ
DOBLE HAPLOIDE (*Zea mays* L.) EN EL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS,
SYNGENTA R&D, JALAPA, GUATEMALA,
C.A.**

**SAFENER APPLICATION TO REDUCE
COLCHICINE EFFECT IN MAIZE DOUBLE
HAPLOID, AT THE CROP INVESTIGATION
CENTER, SYNGENTA RESEARCH AND
DEVELOPMENT, JALAPA, GUATEMALA, C.A.**

2.1. PRESENTACIÓN

El maíz es utilizado por la humanidad desde la antigüedad y sigue siendo una especie vegetal importante para la alimentación humana y animal, siendo su centro de origen Guatemala y México, de donde se difundió a todo el mundo después del primer viaje de Cristóbal Colón a finales del siglo XV. (Paliwal, 2001). Desde esa época se ha domesticado con el fin de mejorar su productividad, esto ha implicado el desarrollo de técnicas de mejoramiento genético. Actualmente el Centro de Investigación de Maíz y Trigo (CIMMYT) es el ente no privado encargado a nivel mundial de mejorar los sistemas de producción de maíz, así mismo centros privados enfocados a la investigación de este cultivo.

En Guatemala, el Centro de Investigación de Cultivos (CIC) de Syngenta R&D se dedica a la producción de líneas puras de maíz por medio de doble haploides, como parte del programa global de mejoramiento genético de maíz. Esta metodología reduce considerablemente el tiempo (8 meses) para obtener una línea pura. El proceso de doblaje cromosómico derivado del uso de colchicina es parte fundamental en producción de dobles haploides, sin embargo reduce hasta un 20 % la tasa de sobrevivencia de las plantas, también provoca una alteración fisiológica que impacta en la cantidad de mazorcas producidas por la desincronización de los órganos reproductivos (protandria y protoginia), por lo tanto aumentar la tasa de sobrevivencia es parte fundamental para mejorar el proceso de producción.

Debido a lo anterior se realizó una evaluación de cipro sulfamida y Syngenta® (5305287) en tres dosis para cada uno, en tres materiales de maíz (14BG110427, 14FS010042, 13TR200055), con el objetivo de reducir la toxicidad del tratamiento de colchicina.

Para medir el efecto de los tratamientos se usó la porcentaje de sobrevivencia de plántulas en el área de aclimatación, la altura de plántulas en el área de aclimatación, la altura de plantas en el área de incremento de dobles haploides y

la producción total de mazorcas por unidad experimental, durante el período de febrero a noviembre del 2016.

En la evaluación se utilizó un experimento bifactorial en un diseño de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas y tres repeticiones. De acuerdo con el análisis de varianza no hubo diferencia significativa de los factores evaluados sobre las variables: porcentaje de sobrevivencia y la altura en plantas de maíz en la fase de aclimatación, ni en la altura de plantas en la fase de incremento de dobles haploides y en el número de mazorcas producido por unidad experimental, por lo tanto las dosis evaluadas de los protectores contra el efecto herbicida no tienen un efecto en las variables evaluadas.

2.2. MARCO TEORICO

2.2.1. Marco conceptual

A. Descripción botánica e importancia del maíz

De acuerdo a Paliwal (2001) el maíz es una planta originaria de Mesoamérica, de importancia alimenticia y económica para el mundo. Pertenece al orden poales, familia poaceae, sub-familia panicoidae, tribu maydeae, género Zea y su especie mays, es una planta de mucho valor económico debido al consumo directo e indirecto del grano (Valladares, 2010).

Según el USDA, (2017) en la temporada del 2018 al 2019 la producción mundial de maíz incrementará 2 % respecto al año 2018. El grano de maíz, es un cereal importante para el consumo humano, especialmente en África y América Latina. En países como USA, China, Corea del Sur, su uso se enfoca como materia prima para elaborar alimento para ganado.

Por otro lado Valladares, (2010) estima que la población mundial, para el año 2001 habían cerca de 6,000 millones de habitantes y 8,000 para el año 2030, esto implica que la demanda de alimentos puede incrementar un 33 % para el 2030 respecto del año 2001.

Paliwal, (2011) afirma que la demanda del maíz blanco continuará aumentando en el futuro. La FAO proyecta una demanda de 60 millones de toneladas adicionales en el año 2030. Por otro lado considerando que el costo de vida continuará en aumento, la demanda de maíz como alimento animal también enfrentará una tasa de crecimiento considerable, tanto así que la FAO, (2010) considera un incremento de maíz para alimento animal de 165 millones de ton a 235 millones en el 2030.

a. Morfología del maíz

Según Valladares (2010), existen variedades enanas de 0.4 m a 0.6 m de altura, hasta gigantes de 8 m, con diámetros de 1.5 cm a 4 cm, el tallo principal está lleno de pulpa destinada al almacén de reservas producidas en la fotosíntesis producida en las hojas.

b. Sistema radicular

Durante la fase embrionaria y de germinación las plantas poseen de 1 a 4 raíces, las cuales dejan de funcionar rápidamente y la planta se alimenta de la semilla las dos primeras semanas después de la germinación.

Las plantas de maíz poseen raíces adventicias las que pueden alcanzar hasta 2 m de profundidad dependiendo del suelo. También poseen raíces de sostén o de soporte que se originan en los nudos basales, favoreciendo la estabilidad de la planta (Valladares, 2010).

c. Tallo

El tallo puede tener uno o varios brotes, pero la producción de mazorcas se da en el tallo principal, este se conoce como culmo el cual es de consistencia fibrosa y cilíndrica, longitudinalmente compuesto por nudos y entrenudos que varía de 8 a 25, con un promedio de 14, extendiendo una hoja por cada nudo y una yema en la base de cada entrenudo (Valladares, 2010).

d. Hojas

Las hojas son largas y anchas y los bordes generalmente lisos, es una vaina foliar (lígula) pronunciada, cilíndrica en su parte inferior y que sirve de cubierta de los entrenudos del tallo, abrazándolo (aurículas), pero con los extremos desnudos.

Su color usualmente es verde, pero se pueden hallar ralladas en blanco y verde o verde y púrpura. Poseen nervaduras paralelas con una nervadura central muy pronunciada (Valladares, 2010).

e. Sistema floral

Las flores se desarrollan en el tallo, a partir de las yemas localizadas en la base de los entrenudos, de 1 a 3 mazorcas (elotes), que contienen los ovarios que a su vez, se convertirán en granos después de la polinización.

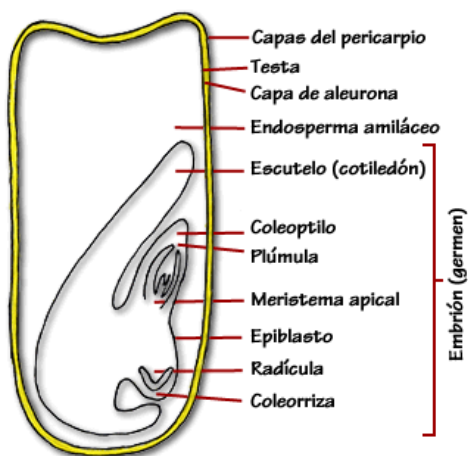
Cada ovario tiene un largo estilo (pelo, cabello o seda), que sobresale de las hojas modificadas (tuza o espatas), que forman las hojas que recubren la mazorca, el polen que cae sobre la seda germina y crece a través de los estilos hasta que alcanza los ovarios y se produce la fecundación. Las espigas masculinas que crecen en cada tallo principal, producen polen únicamente, el cual es arrastrado por el viento hasta la seda de las hojas vecinas. (Valladares, 2010)

f. Fruto

El fruto individual del maíz es botánicamente un cariósipide, un fruto seco que contiene una sola semilla fusionada en el interior de los tejidos del propio fruto. La semilla contiene dos estructuras hermanas, un germen del cual se desarrollará una nueva planta y un endospermo el cual proveerá los nutrientes a la plántula hasta que ésta logre desarrollar la suficiente área foliar para tornarse en autótrofa. (Valladares, 2010)

El germen consiste de un vástago en miniatura, incluyendo aproximadamente cinco hojas embrionarias, una radícula, de la cual se desarrollará el sistema radical, así como una hoja seminal anexa (escutelo), en la figura 1 se detallan las partes de un fruto de maíz.

La producción de dobles haploides de maíz por medio del rescate de embriones, se enfoca en extraer los embriones de los granos en estado R3 o R4 separando manualmente el endospermo y el embrión, el tratamiento de colchicina se hace únicamente al embrión, el objetivo del tratamiento de colchicina es llegar al meristemo apical (figura 15), sin embargo para llegar al meristemo apical, primero debe pasar por la plúmula que es el meristemo que da origen a las hojas, y es la razón por la cual las hojas son afectadas en el tratamiento de colchicina.



Fuente: (Universidad Católica de Chile, 2007)

Figura 15. Partes de un cariósido de maíz (*Z. mays* L.)

B. Etapas fenológicas del maíz

El maíz (*Z. mays* L.) posee un desarrollo fenológico con seis estados vegetativos que van desde la emergencia hasta el inicio del apareamiento de la panoja, y seis estados reproductivos que va desde la emergencia de las espigas hasta la madurez fisiológica del grano. En el cuadro 1 se muestra el sistema de clasificación de las etapas fenológicas utilizado por la universidad de Illinois y divide al desarrollo de la planta de maíz en vegetativo y reproductivo.

Cuadro 1. Etapas fenológicas del maíz (*Z. mays*. L.)

Estados vegetativos		Estados reproductivos	
VE	Emergencia	R1	Emergencia de estigmas
V1	1ra hoja desarrollada	R2	Ampolla (<i>blister</i>)
V2	2da hoja desarrollada	R3	Grano lechoso
V3	3da hoja desarrollada	R4	Grano pastoso
V(n)	"n- ésima" hoja	R5	Grano dentado
VT	Panojamiento (apareamiento de la panoja)	R6	Madurez fisiológica

Fuente: Ritchie y Hanway,
1982

Las subdivisiones del estadio vegetativo (V) son designadas como VE, V1 hasta V(n), siendo (n) la última hoja antes del panojamiento (VT). El número de hojas varía de acuerdo con el cultivar y el efecto ambiental. En el estadio reproductivo existen seis etapas que toman de referencia el desarrollo del grano desde que los estigmas salen de las brácteas de la inflorescencia femenina. (Informaciones Agronómicas, 2016).

C. La tecnología de doble haploides en el mejoramiento del maíz

Prasana *et al*, (2013) determinan que la tecnología de producción de doble haploides fue desarrollada por Chase en 1947, quien definió un “doble haploide” como un genotipo que se forma cuando las células de un organismo haploide (n) experimentan un proceso que puede ser espontáneo o inducido artificialmente de duplicación cromosómica, esta tecnología acorta el tiempo para obtención de líneas totalmente homocigotas (en 2 o 3 generaciones), en comparación con el proceso convencional que tarda de 6 a 8 generaciones para obtener líneas con un valor aproximado de 99 % de homocigocis.

La técnica de producción de doble haploides *in vivo* asistida por inductores de haploidía se estableció cuando Coe en 1959 descubrió una línea que provocaba una alta frecuencia de haploidía, al cual denominó “Stock 6” este se utilizó para generar inductores con una frecuencia más elevada además de incorporar un marcador de color a base de antocianina en la configuración genética de los inductores a fin de facilitar la identificación de los haploides (Prasana, Chaikam y Mahuku, 2013).

La tecnología de producción de doble haploides en el mejoramiento de maíz, basada en la inducción de haploidía *in vivo*, es reconocida a nivel mundial como un importante medio para aumentar la eficiencia del mejoramiento. En los últimos 10 años a 15 años, la tecnología fue adoptada por varios programas fitotécnicos comerciales de maíz en diversas regiones del mundo (Prasana, Chaikam y Mahuku, 2013). Tal es el caso de Syngenta R&D que adoptó esta tecnología agregando el rescate de embriones del germoplasma, es decir que los granos producidos por la cruce entre el inductor de haploidía y el germoplasma de interés se cosechan en un estado lechoso los cuales pasan posteriormente a un proceso en laboratorio donde se extraen los embriones a los cuales se le agrega el tratamiento de colchicina.

Según Gordillo y Geiger, (2008) la tecnología de doble haploides ofrece ventajas en la genética y el mejoramiento del maíz, respecto a los métodos convencionales, a continuación se presentan algunas de ellas:

1. Acorta de manera considerable el ciclo de mejoramiento al permitir obtener líneas completamente homocigotas en dos generaciones.
2. Simplifica la logística, por ejemplo, se necesitan menos tiempo, mano de obra y recursos económicos para generar líneas nuevas de mejoramiento, tanto el tiempo como los recursos que se ahorran podrían destinarse a la implementación de procesos de selección más eficaces y la rápida liberación de variedades élite.
3. Si se combina con marcadores moleculares, facilita el acceso al germoplasma presente en las líneas parentales, ya sea femeninas o masculinas, de los híbridos; y ofrece la oportunidad de realizar estudios de asociación entre marcadores y caracteres, introgresión de genes con la ayuda de marcadores y la ingeniería genética.

- a. Desarrollo de doble haploides mediante inducción *in vivo* de haploidía en un progenitor materno.

Los inductores de haploidía son cepas genéticas especializadas que, cuando se les cruza con una planta diploide (normal) de maíz, producen granos en una mazorca con segregación de granos diploides ($2n$) y una cierta fracción de granos haploides (n), a causa de la fertilización anómala (Coe y Sarkar, 1964).

El programa de inducción *in vivo* de haploidía en progenitores maternos actualmente depende de la presencia de un marcador que pigmenta de color púrpura denominado *R1-Navajo* (*R1-nj*), que se expresa en la aleurona y en el embrión del inductor de haploidía.

El gen *R1-Navajo* como marcador de color dominante ayuda a diferenciar los granos monoploides o haploides (n) (sin expresión de antocianina de color morado o rojo en el escutelo, pero con la típica coloración de la corona en el endospermo) de los granos diploides ($2n$) (con expresión de antocianina tanto en el endospermo como en el escutelo) (Chase, 1947).

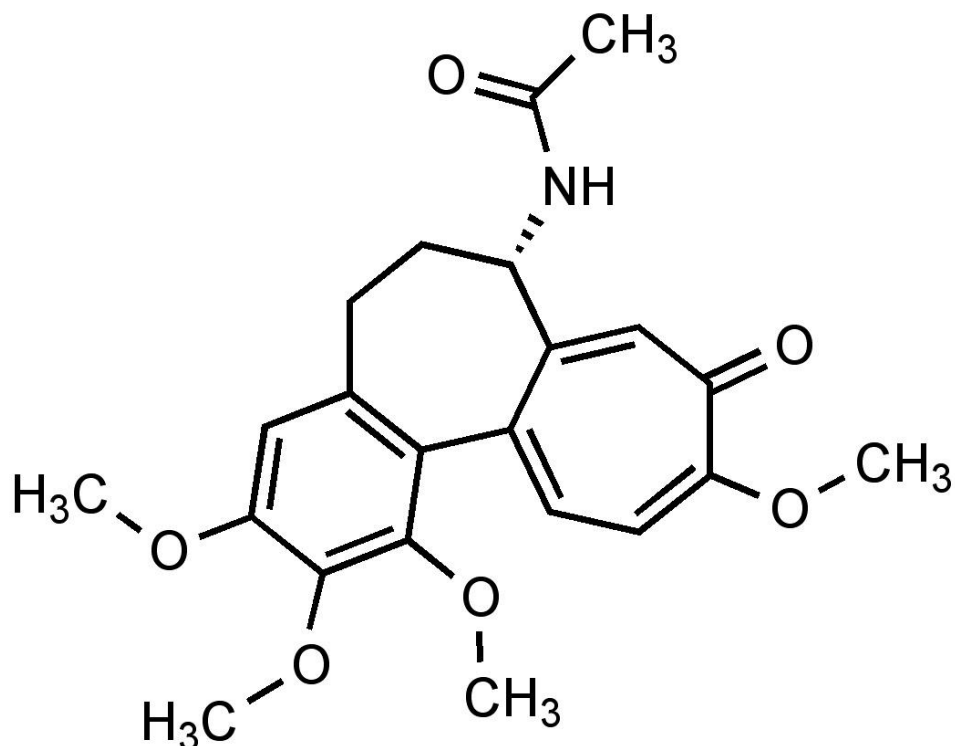
A diferencia de las tecnologías que se adoptan en otros países Syngenta® implementó el rescate de embriones a los cuales se les agrega el tratamiento de colchicina para provocar una doble haploidía.

b. La colchicina y sus aplicaciones

De acuerdo con Polci, Conti y Miranda, (2001) la colchicina (figura 16) es un alcaloide que se encuentra naturalmente en las semillas y en los bulbos de *Colchicum autumnale* L, la acción de esta sustancia fue descubierta en 1937 y desde entonces ha pasado a ser prácticamente el agente diploidizante más importante, actúa específicamente al bloquear el ensamblaje de la tubulina y evitando la formación de los microtúbulos del huso acromático, al no haber movimiento de las cromátidas a los polos no se establecen las corrientes citoplásmicas que determina la formación de la membrana celular que se formará entre las dos células hijas; por tanto la mitosis que se produce bajo la influencia de la colchicina se denomina c-mitosis dando lugar a la duplicación del complemento cromosómico completo.

Este compuesto ha sido utilizado desde hace décadas como agente duplicador de cromosomas (inhibidor mitótico) en la producción de doble haploides, sin embargo el tratamiento con colchicina no siempre es eficaz y puede producir la diploidización sectorial de las inflorescencias masculinas y/o femeninas (Prasana, Chaikam y Mahuku, 2013).

Ramírez, (2016) indica que la colchicina es utilizada con DMSO (dimetil sulfóxido) para facilitar el ingreso dentro de las paredes celulares lo cual provoca una alta toxicidad en los embriones tratados.



Fuente: Hantzschel & Wenber, 2010

Figura 16 Esquema estructural de la colchicina

D. Protectores del efecto herbicida (*herbicide safeners*)

De acuerdo con Davies, (2001) los protectores de herbicidas transfieren protección selectiva a los cultivos del daño de los herbicidas sin reducir la efectividad de control. El mismo autor indica que el fenómeno fue descubierto por Otto Hoffman en 1947, a través de una exposición accidental de plantas de tomate a la aplicación del herbicida 2,4-D (2,4-Diclorofenoxiacético), algunas de estas plantas habían sido tratadas con otro herbicida previamente, el 2,4,6-T (2,4,6-Trichlorophenol) y curiosamente las plantas que fueron tratadas con el último producto no desarrollaron ningún síntoma del 2,4-D; a partir de este fenómeno se desarrollaron una serie de investigaciones enfocadas a identificar compuestos con actividad protectora contra los herbicidas.

El primer producto comercial contra el efecto de los herbicidas fue el 1,8 anhídrido naftalico (NA), este fue patentado por Gulf Oil Company en 1971, para usarse específicamente en el tratamiento de semillas para la protección de maíz al daño de herbicidas tiocarbamatos, a raíz de esto han surgido una serie de protectores contra herbicidas, Ciba Geigy (ahora Syngenta®) investigó durante 30 años y descubrió compuestos como cyometinil, oxabetrinil y fluxofenim, en su mayoría estas moléculas fueron lanzadas al mercado para cereales, maíz, sorgo y arroz, sin embargo estos productos fueron desarrollados para tratamientos en preemergencia.

Rosinger, (2014) hace referencia que la alta eficacia de los herbicidas utilizados principalmente en cereales se debe al uso de protectores, un estudio independiente en el 2011 indica que aproximadamente el 30 % de los herbicidas usados en maíz en ese momento contenían protectores contra herbicidas.

a. Mecanismo de acción de los protectores al efecto herbicida

De acuerdo con Rosinger, (2014) casi todos los protectores trabajan induciendo la expresión de genes los cuales codifican enzimas asociadas en la detoxificación de herbicidas, de esta manera las moléculas de herbicida son degradadas rápidamente, asegurando que no se alcance la concentración letal, sin embargo los objetivos actuales de los protectores contra herbicidas no se conocen, por lo tanto no está clara la especificidad para otras especies e incluso se desconocen las vías de acción concretas.

Por otro lado Davies, (2001) indica que los protectores funcionan reduciendo la habilidad de los herbicidas para alcanzar e inhibir los sitios de acción de estos. Según este autor, estas moléculas pueden hacerlo al interactuar directamente con las zonas de acción de las moléculas de los herbicidas o en su efecto en los receptores proteínicos de herbicidas en las plantas. También pueden reducir las

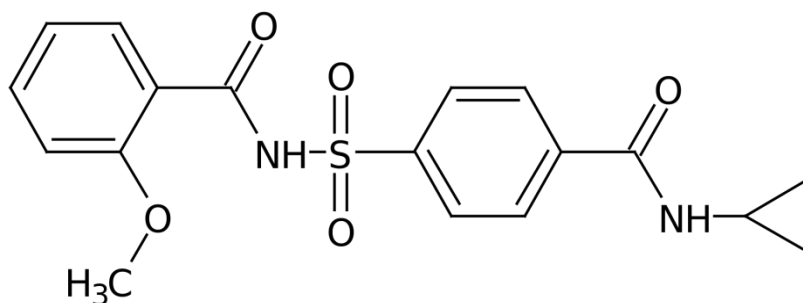
zonas de acción de los herbicidas, reducen la translocación o incrementando la degradación para inmovilizar metabolitos.

A pesar de que estos productos son muy eficaces contra el efecto herbicida, no se encontró referencias sobre el uso de los protectores contra herbicidas para reducir el efecto tóxico de la colchicina, sin embargo, Hantschel & Wenber, 2010 realizaron estudios utilizando herbicidas como alternativas al uso del colchicina, los compuestos utilizados fueron Pronamid, APM(amiprofos methyl) , trifluralín y orizalín, los cuales consideran inhibidores mitóticos eficientes que al igual que la colchicina inhiben la formación del huso acromático.

i. Ciprosulfamida

Según Kraehmer, (2014) uno de los protectores más recientes es ciprosulfamida (ver figura 17), tiene la ventaja sobre otros protectores debido a su fuerte actividad protectora en preemergencia y en post emergencia.

De acuerdo con Santel, (2012) este compuesto fue desarrollado como protector contra herbicidas del grupo de las sulfonilureas específicamente de thiencarbazon methyl (TCM), estos compuestos son potentes inhibidores de la acetolactato sintetasa (ALS). La ciprosulfamida es un compuesto perteneciente a las sulfamidas aromáticas, este compuesto fue desarrollado conjuntamente con el herbicida TCM, el protector actúa antes o después de la aplicación de TCM, la dosis comercial de ciprosulfamida es de 154 g i.a./ha.



Fuente: Kraehmer, 2014

Figura 17 Estructura química de cipro sulfamida

ii. Protector 5305287

El protector contra el efecto herbicida 5305287 aún no ha sido lanzado al mercado, tampoco hay referencias sobre el uso de este compuesto de manera comercial y las investigaciones recientes se encuentran bajo confidencialidad de la empresa.

2.3. OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

Evaluar dos protectores del efecto herbicida, ciprosulfamida y protector 5305287 contra el efecto de la colchicina como inductor de doble haploidía en tres materiales de maíz, en fase de laboratorio e incremento de dobles haploides.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del tratamiento de protector del efecto herbicida en el incremento del porcentaje de sobrevivencia y la altura de plantas en la fase de aclimatación de las plantas.
2. Determinar el efecto del tratamiento del protector del efecto herbicida en el incremento del número de mazorcas por unidad experimental.

2.4. METODOLOGÍA

La metodología utilizada se basó tomando en cuenta el proceso de producción de doble haploides que convencionalmente se realiza en el Centro de Investigación de Cultivos de Syngenta®. La metodología utilizada se presenta a continuación.

2.4.1. Proceso de producción de doble haploides

El proceso de producción de doble haploides consistió en tres fases: A) inducción de haploides; B) extracción de embriones (producción de doble haploides) y C) incremento de doble haploides; las cuales se describen a continuación:

A. Inducción de haploides

La fase de inducción de doble haploides inició con la siembra de tres materiales genéticos de maíz de distintas regiones del mundo, que fueron seleccionados por el investigador asociado de maíz del CIC y trasplantados junto a un inductor de haploidía. En el cuadro 2 se detalla la cantidad de plantas por germoplasma trasplantadas en campo definitivo en la fase de inducción de dobles haploides.

Cuadro 2. Cantidad de plantas por material genético trasplantadas en campo definitivo en fase de inducción de doble haploides.

No.	Material	No. De plantas trasplantadas
1	14BG110427	147
2	14FS010042	225
3	13TR200055	250

Fuente: Syngenta, 2016

Cada una de esas plantas fue polinizada con polen del inductor utilizado en el CIC. Las mazorcas fueron cosechadas en una fase lechosa, antes de trasladarlas al laboratorio.

B. Extracción o rescate de embriones (Producción de doble haploides)

La fase de extracción de embriones y producción de doble haploides consistió en las siguientes sub-fases:

a. Recepción de mazorcas y desinfección de mazorcas

En esta fase se recibieron las mazorcas de la fase de inducción, las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio [6 %] v/v además se agregaron 2 cm³ de Tween 80® para facilitar el ingreso del hipoclorito de sodio a la mazorca, durante 24 min a 125 rpm.

b. Extracción de embriones

Luego de desinfectarse las mazorcas se extrajeron los embriones para ingresarlos en cajas de petri de 200 unidades.

C. Selección de embriones haploides

Para seleccionar los embriones haploides existe un marcador de antocianina (color púrpura) que se activa con la exposición de los embriones a la luz. Después de haber extraído los embriones, las cajas petri se colocaron en luz artificial con una intensidad aproximada de 500 $\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ durante 15 h, al finalizar la exposición los embriones pigmentados (púrpuras) no fueron seleccionados porque son diploides; los embriones haploides se colectaron en cajas petri de 50 unidades con medio Inicial y se sometieron por 24 h a 10 °C.

D. Tratamiento de colchicina (doblaje cromosómico)

Antes del tratamiento de colchicina se estimuló la división celular de los meristemas de los embriones agregando 2.5 mL de BAP por 40 min en luz artificial después se hizo un juague por 15 min y se agregó el tratamiento de colchicina por 3.5 h al finalizar se agregó un enjuague con medio inicial.

E. Preparación de medios de cultivo con tratamientos

Los medios de cultivo se elaboraron de acuerdo a los protocolos de laboratorio y se agregaron los tratamientos de acuerdo al protocolo de la investigación. Se elaboraron soluciones 1000X de cipro sulfamida y Syngenta® (5305287). Se estandarizaron tres grupos de medios, cada uno con las concentraciones que se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Concentraciones de los tratamientos de cada protector contra herbicidas.

Producto	Concentración
Ciprosulfamida	1 mg/L
	3 mg/L
	5 mg/L
Syngenta® (5305287)	1 mg/L
	3 mg/L
	5 mg/L

Fuente: elaboración propia, 2016

F. Siembra en medio sólido y crecimiento en condiciones controladas.

La última fase de laboratorio consistió en sembrar los embriones por unidades experimentales de 5 contenedores con 25 embriones cada uno, 125 embriones por cada unidad experimental. Los embriones se mantuvieron alrededor de 15 d durante esta fase.

G. Fase de endurecimiento

Al salir del laboratorio se seleccionaron las plantas por tamaño de acuerdo a los procedimientos estándares y se trasplantaron en bandejas de acuerdo a las unidades experimentales, las bandejas se ordenaron de acuerdo al diseño experimental establecido.

Las unidades experimentales permanecieron durante 21 d en esta fase. Un día antes de trasladar las plantas se hicieron lecturas de alturas desde el cuello de la planta hasta el ápice de la hoja más grande, también se contabilizaron las plantas sobrevivientes por cada unidad experimental.

H. Incremento de doble haploides

En esta fase se trasplantaron las plantas de acuerdo al croquis de bloques al azar (ver figura 5) a partir de esta fase se realizaron actividades que se describen a continuación.

a. Trasplante

El trasplante se realizó bajo condiciones de invernadero de según el esquema de la unidad experimental (figura 4) y en el arreglo según el croquis de campo.

b. Manejo agronómico

El manejo agronómico estuvo a cargo el área de agronomía, las principales actividades incluyeron el monitoreo de la humedad del suelo considerando que no sea menor al punto de marchitez permanente, el monitoreo de plagas y enfermedades, la aplicación de fertilizante granulado (triple 15, 20-20-0), aplicaciones de fertirriego a razón de 700 cm³ por riego tres veces por días.

c. Autopolinizado

La autopolinización se realizó de manera manual y controlada a través bolsas de papel para aislar las inflorescencias.

d. Toma de datos y cosecha

Previo a realizar la polinización se tomaron medidas de altura de las plantas desde la base de la planta al ápice de la última hoja. Las mazorcas fueron cosechadas por el área de procesamiento de semillas donde fueron contabilizadas por el personal a cargo.

2.4.2 Método experimental

A. Diseño experimental

En el estudio fue utilizado un diseño en bloques al azar con tres repeticiones y arreglo en parcelas divididas, distribuyendo en las parcelas grandes los materiales de maíz proporcionados por el CIC. En las parcelas pequeñas fueron aleatorizados los tratamientos (combinación de las moléculas protectoras contra el efecto herbicida con sus respectivas dosis). En el croquis (figura 5) se muestra en detalle la distribución de los tratamientos.

El modelo estadístico matemático asociado a este experimento, se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + (\alpha\rho)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Siendo:

Y_{ijk} = Porcentaje de sobrevivencia, altura en aclimatación, altura en fase de incremento de dobles haploides, producción de mazorcas por unidad experimental

μ = Media general de la variable de respuesta

β_j = Efecto del j-ésimo bloque

α_i = Efecto del i-ésimo material genético de maíz

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo material genético de maíz con el j-ésimo bloque, que es utilizado como residuo de parcelas grandes y es representado por error_(a)

ρ_k = Efecto de la k-ésima dosis del protector de herbicida

$(\alpha\rho)_{ik}$ =Efecto debido a la interacción del i-ésimo material genético con la k-ésima dosis de protector de herbicida

ε_{ijk} = Error experimental asociado a la ijk-ésima unidad experimental, es utilizado como residuo a nivel de parcela pequeña, y es definido como: Error_(b)

B. Factores de estudio y niveles

Se evaluaron dos factores, el factor A, constituido por tres materiales genéticos de maíz, que fueron aleatorizados en las parcelas grandes. Estos materiales de maíz provienen de distintas regiones del mundo. En el cuadro 4 están las identificaciones internas dentro del centro experimental (MATID) y el código asignado para efectos de la investigación.

Cuadro 4. Identificaciones de los materiales de maíz correspondientes al factor A.

Población	MATID
P1	14BG110427
P2	14FS010042
P3	13TR200055

Fuente: Elaboración propia, 2016

El factor B se consistió en tres dosis para cada uno de los protectores de herbicidas: ciprosumfamid y el producto Syngenta® (5305287), que en total da seis combinaciones, además se agregó un testigo (sin aplicación). En el cuadro 5 se presentan los niveles del factor B.

Cuadro 5. Identificaciones, productos y dosis de los niveles correspondientes al factor B.

Tratamiento	Producto	Dosis
B1	ciprosumfamid	1 mg/L
B2	ciprosumfamid	2 mg/L
B3	ciprosumfamid	5 mg/L
B4	safener Syngenta (5305287)	1 mg/L
B5	safener Syngenta (5305287)	2 mg/L
B6	safener Syngenta (5305287)	5 mg/L
B7	sin safener (testigo)	

Fuente: Elaboración propia, 2016

A partir de los distintos niveles de los factores A y B se realizaron sus combinaciones para determinar los tratamientos del experimento, a partir de estos se obtuvieron las identificaciones de campo, estos se presentan en el cuadro 6.

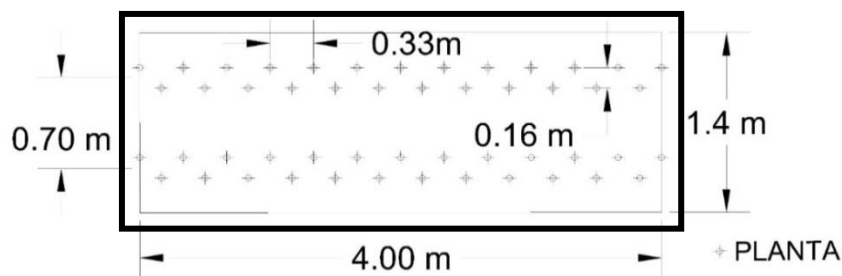
Cuadro 6. Tratamientos para la evaluación de protectores contra herbicidas.

Material de maíz (parcelas grande)	Tratamiento por producto (parcelas pequeñas)	Identificación en campo
P1	B1	P1B1
P1	B2	P1B2
P1	B3	P1B3
P1	B4	P1B4
P1	B5	P1B5
P1	B6	P1B6
P1	B7	P1B7
P2	B1	P2B1
P2	B2	P2B2
P2	B3	P2B3
P2	B4	P2B4
P2	B5	P2B5
P2	B6	P2B6
P2	B7	P2B7
P3	B1	P3B1
P3	B2	P3B2
P3	B3	P3B3
P3	B4	P3B4
P3	B5	P3B5
P3	B6	P3B6
P3	B7	P3B7

Fuente: Elaboración propia, 2016

C. Descripción de la unidad experimental

La unidad experimental estuvo constituida por un número mínimo de 50 plantas de maíz en un marco de plantación de 0.7 m entre camellón y 0.33 m entre plantas a surcos dobles, utilizando una parcela de 4 m de largo por 1.4 m de ancho (5.6 m²). En la figura 19 se detalla un esquema de la unidad experimental con la distribución de las plantas en campo.

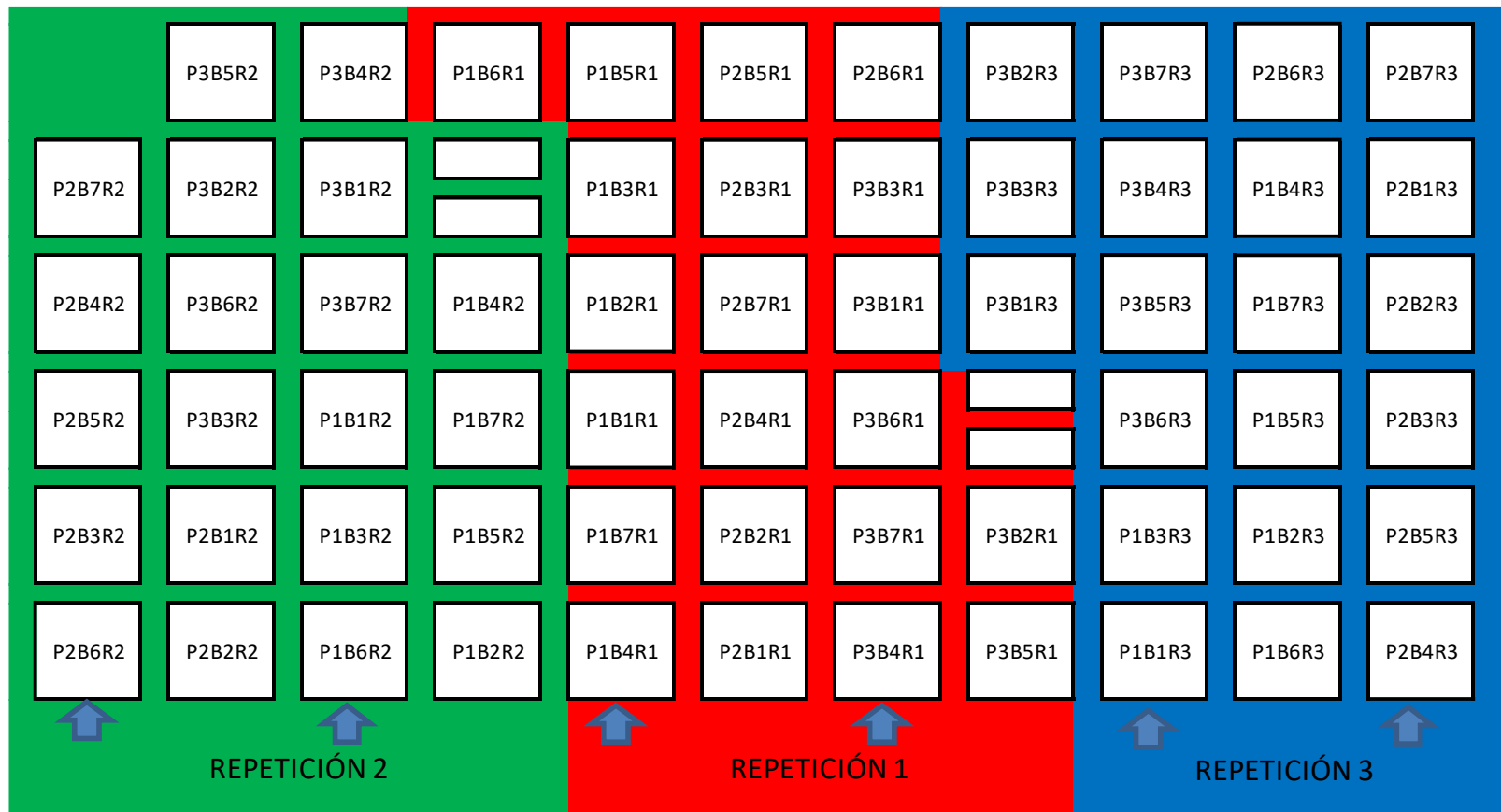


Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 18. Unidad experimental constituida por 50 plantas.

D. Croquis de campo de bloques al azar con parcelas divididas

En la figura 20 se muestra la distribución espacial de las unidades experimentales con su identificación y ubicación dentro del invernadero asignado.



Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 19. Croquis de aleatorización en parcelas divididas

E. Variables respuesta

Las variables medidas fueron:

1. Altura de las plantas en fase de aclimatación: se midió la altura en cm con una regla desde la base de la planta hasta el ápice de la última hoja hacia arriba, utilizando una regla, a los 14 d después del trasplante.
2. Porcentaje de sobrevivencia en aclimatación: el porcentaje de sobrevivencia se determinó contabilizando el número de plantas trasplantadas al inicio para cada unidad experimental y contabilizando el número de plantas vivas un día antes del traslado a la fase de incremento de dobles haploides las plantas sobrevivientes.

$$\% \text{ sobrevivencia} = \frac{\text{Plantas trasplantadas}}{\text{Total de plantas vivas (1 día antes de salir de aclimatación)}} \times 100$$

3. Número total de mazorcas producidas por tratamiento al final de la fase de incremento de doble haploides: se contó el número de mazorcas de cada unidad experimental en el área de procesamiento, esta actividad la realizó el personal de trabajo del área de procesamiento de semillas.

F. Análisis de los datos

Los datos colectados se pueden observar en el cuadro 14A, para cada variable respuesta se organizaron en Excel®, ordenando por columnas los tratamientos repeticiones y la variables respuestas. Con estos datos se realizó el análisis de varianza para cada variable de respuesta, verificando el cumplimiento de los supuestos del modelo estadístico matemático asociado al diseño experimental utilizado, siendo:

1. Normalidad: con la prueba de Shapiro-Wilk se evaluó la hipótesis nula relacionada con la normalidad de la distribución de los residuos del modelo.

2. Homogeneidad de varianzas e independencia: para evaluar este supuesto se construyó una gráfica de dispersión de los valores predichos contra los residuos estudentizados.

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1. Altura promedio en el área de aclimatación

Al iniciar este experimento se pretendía adaptar la tecnología de los protectores del efecto herbicida a la producción de dobles haploides, en este sentido el objetivo fue reducir la toxicidad de los embriones después del tratamiento de colchicina y proveer un desarrollo vigoroso que le permitiera a los embriones completar el ciclo de vida y producir mayor cantidad de mazorcas por planta haploide producida.

Se evaluó la ciprosulfamida y el protector 5605287 en tres dosis cada uno y su respectivo testigo absoluto, sin embargo el análisis de varianza no mostró diferencia significativa (0.05) en el factor dosis de protectores del efecto herbicida para la variable respuesta de altura promedio en el área de aclimatación.

De acuerdo con Santel, 2012 la ciprosulfamida es uno de los últimos moléculas contra el efecto herbicida desarrollados, específicamente para el grupo de herbicidas de las sulfonil ureas, según el mismo autor este grupo de herbicidas bloquea la síntesis de acetolactato sintetasa (ALS), misma que es esencial para la síntesis de proteínas en las plantas, esto indica que la ciprosulfamida no tiene efectos sobre la acción de la colchicina, según el autor citado y según los resultados obtenidos en la investigación; respecto al otro producto evaluado, este está bajo investigación y se desconocen los antecedentes.

Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable altura de plantas en aclimatación

F.V	GL	SC	CM	F	Valor de p
MATERIAL	2	79.54	39.77	1.9	0.2625
BLOQUE	2	20.5	10.25	3.69	0.0348
Error (a)	4	83.57	20.89	7.52	0.0002
DOSIS	6	25.68	4.28	1.54	0.193
MATERIAL *DOSIS	12	10.02	0.84	0.3	0.9852
Error (b)	36	99.98	2.78		
Total	62	319.29			

(CV) 8.72 %

Referencias:

F.V: fuente de variación

GL: Grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

CM: Cuadrados medios

F: Valor de F

Valor de p: valor de significancia

CV: Coeficiente de variación

En la figura 21 se muestran los promedios de altura obtenidos en las plantas previo a salir del área de aclimatación hacia el área de incremento de doble haploide, la altura se midió a partir de la base de las plantas hasta el ápice de la hoja más joven, a pesar que la concentración de cipro sulfamida a 1 mg/L (B1) presentó mayor promedio de altura respecto al menor que fue el testigo (B7), la diferencia del mayor promedio respecto al menor fueron 1.89 cm, esto no fue significativo de acuerdo al análisis de varianza que se presentó anteriormente (cuadro 7).

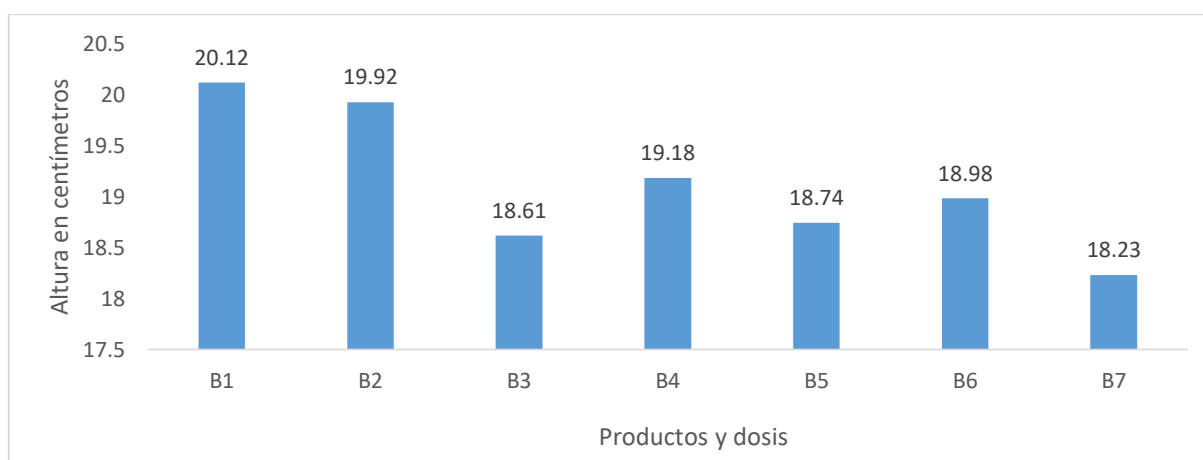


Figura 20. Altura promedio de plantas en aclimatación de acuerdo con la combinación de producto y dosis

2.5.2. Porcentaje de sobrevivencia en área de aclimatación

El análisis de varianza (cuadro 8) no mostró diferencia significativa (0.05) en el factor dosis de protectores del efecto herbicida para la variable respuesta porcentaje de sobrevivencia en el área de aclimatación.

El porcentaje de sobrevivencia se determinó contando las plantas que salieron del laboratorio y que fueron trasplantadas en bandejas de 144 recipientes, el otro conteo de plantas para cada unidad experimental se realizó 24 h antes de salir del área de aclimatación hacia el área de incremento de dobles haploides.

Cuadro 8. Resumen del análisis de varianza para la variable porcentaje de sobrevivencia en el área de aclimatación

F.V	GL	SC	CM	F	Valor de p
MATERIAL	2	0.03	0.02	33.4	0.0032
BLOQUE	2	0.01	0.0028	2.6	0.088
MATERIAL*BLOQUE	4	0.002	0.0005	0.46	0.7628
DOSIS	6	0.01	0.001	0.95	0.4746
MATERIAL*DOSIS	12	0.02	0.0014	1.34	0.2404
Error	36	0.04	0.0011		
Total	62	0.1			

(CV) 3.49 %

Referencias:

F.V: fuente de variación
 SC: Suma de cuadrados
 gl: Grados de libertad
 CM: Cuadrados medios

F: Valor de F
 Valor p: valor de significancia
 CV: coeficiente de variación

En la figura 22 se presenta el porcentaje promedio de sobrevivencia para cada tratamiento evaluado en la fase de aclimatación. El porcentaje de sobrevivencia del testigo no coincide con el porcentaje de sobrevivencia referido en los antecedentes (80 %), sin embargo es importante considerar que la cantidad de plantas evaluadas en la investigación fueron 125 por unidad experimental mientras los antecedentes están en base a la producción total (4 millones de embriones/a), la heterogeneidad de los materiales de maíz y las condiciones de trabajo.

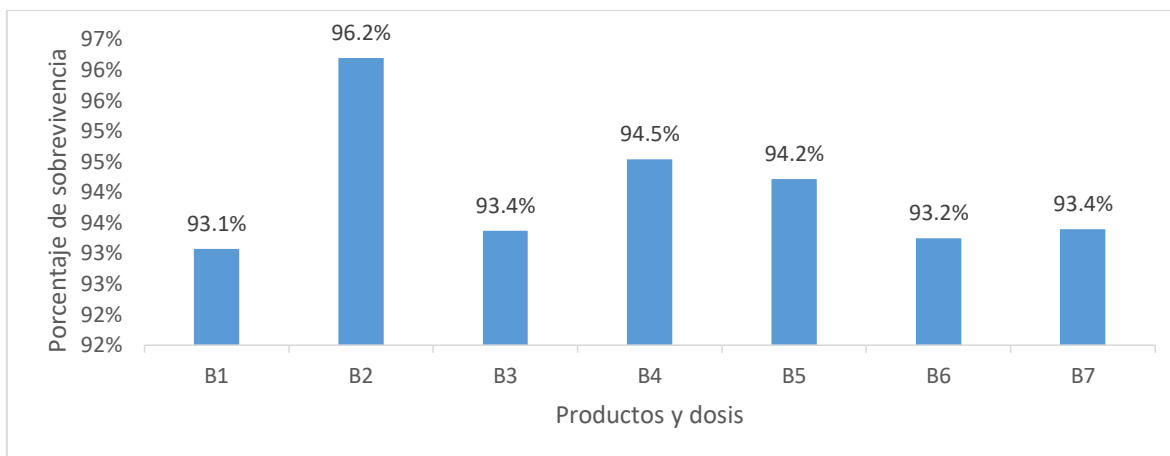


Figura 21. Porcentaje de sobrevivencia de plantas en el área de aclimatación

2.5.3. Altura promedio de plantas en área de incremento de dobles haploides

El análisis de varianza (cuadro 9) no mostró diferencia significativa ($\alpha=0.05$) en el factor dosis de protectores del efecto herbicida para la variable respuesta altura promedio medida en el área de incremento de dobles haploides. La altura de las plantas se tomó como indicador del nivel de daño del tratamiento de colchicina aplicado en el laboratorio, sin embargo no hubo ningún efecto en la altura para los tratamientos evaluados.

Cuadro 9. Resumen del análisis de varianza para la variable altura promedio de plantas en el área de incremento de dobles haploides

F.V	GL	SC	CM	F	Valor de p
MATERIAL	2	25835.52	12917.76	200	0.0001
BLOQUE	2	175.13	87.57	1.34	0.2736
MATERIAL*BLOQUE	4	258.25	64.56	0.99	0.4249
DOSIS	6	674.35	112.39	1.73	0.1433
MATERIAL*DOSIS	12	903.29	75.27	1.16	0.35
Error	36	2345.47	65.15		
Total	62	30192.02			

(CV): 7.09 %

Referencias:

F.V: fuente de variación
 SC: Suma de cuadrados
 gl: Grados de libertad
 CM: Cuadrados medios

F: Valor de F
 Valor p: valor de significancia
 CV: coeficiente de variación

En la figura 23 se muestran los promedios de altura para cada uno de los tratamientos establecidos, de acuerdo con el análisis de varianza no hubo diferencia significativa, los tratamientos que presentaron una mayor altura fueron el tratamiento B3 y B6, que le corresponden las dosis de 5 mg/L de ciprosulfamida y 5 mg/L del producto Syngenta® (5305287).

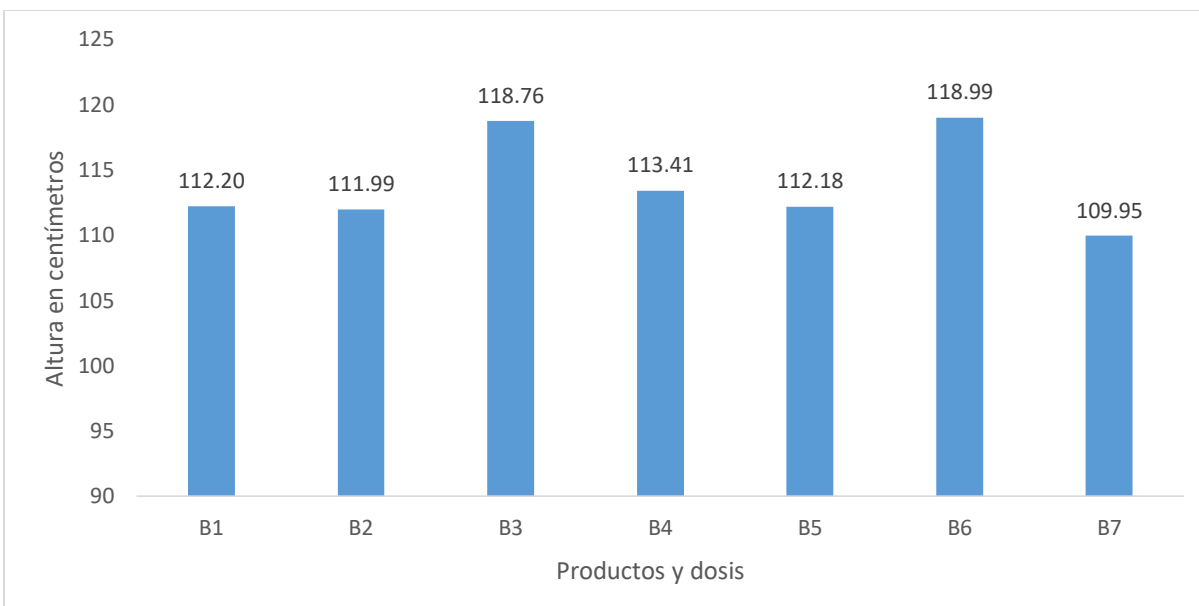


Figura 22. Altura promedio de plantas en fase de incremento de dobles haploides según los productos y dosis

2.5.4. Promedio de mazorcas por unidad experimental

El análisis de varianza (cuadro 10) no mostró diferencia significativa ($\alpha=0.05$) en el factor dosis de protectores del efecto herbicida en el número promedio de mazorcas producidas por unidad experimental, que fue la variable más importante por el impacto que representaría un aumento significativo en la producción de mazorcas, considerando que son el producto final de la cadena de producción de dobles haploides.

Cuadro 10. Resumen del análisis de varianza para la variable número promedio de mazorcas por unidad experimental

F.V	GL	SC	CM	F	Valor de p
MATERIAL	2	278	139	2.49	0.1987
BLOQUE	2	7674.95	3837.48	67.9	<0.0001
MATERIAL*BLOQUE	4	223.62	55.9	0.99	0.4257
DOSIS	6	79.94	13.32	0.24	0.9619
MATERIAL*DOSIS	12	371.11	30.93	0.55	0.8683
Error	36	2034.1	56.5		
Total	62	10661.71			

(CV):22.23 %

Referencias:

F.V: fuente de variación
 SC: Suma de cuadrados
 gl: Grados de libertad
 CM: Cuadrados medios

F: Valor de F
 Valor p: valor de significancia
 CV. coeficiente de variación

En la figura 24 se muestran el promedio de mazorcas producidas por unidad experimental, el rango promedio de producción estuvo alrededor de 32 mazorcas y 36 mazorcas por unidad experimental. Los resultados no representan una mejora para la producción de mazorcas con las dosis evaluadas, esto abre la posibilidad de evaluar otras dosis o bien replantear la investigación considerando aplicar los protectores del efecto herbicida en otra fase del proceso del doblaje cromosómico, una opción sería aplicar los mismos tratamientos seguido del proceso del doblaje cromosómico en el enjuague de los embriones, además de agregar en el medio de cultivo tal como se realizó en esta investigación.

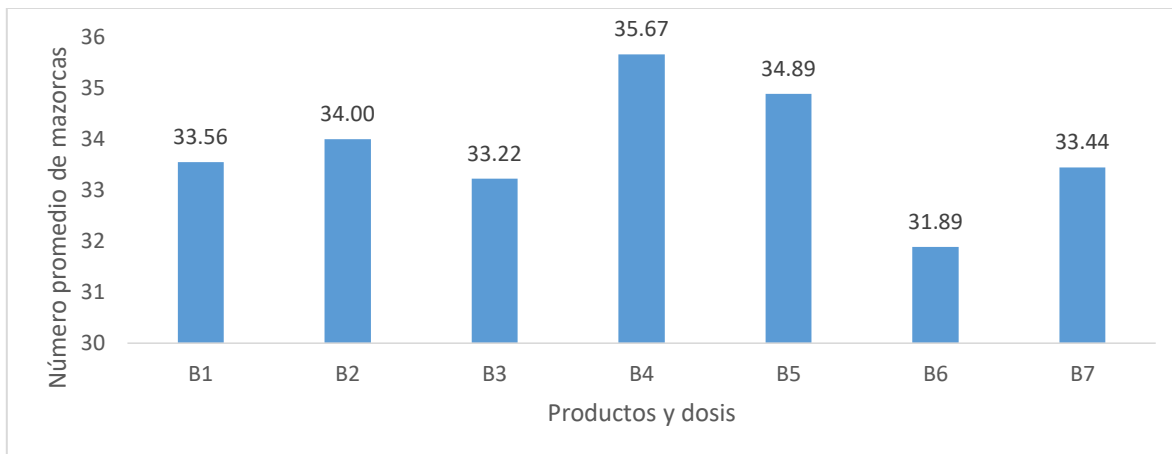


Figura 23. Promedio de mazorcas por unidad experimental según los tratamientos evaluados

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede definir que las dosis de cipro sulfamida y Syngenta® 5305287 no provocaron un incremento significativo ($\alpha=0.05$) en el porcentaje de sobrevivencia, en la altura de las plantas en el área de aclimatación, en la altura de las plantas en el área de incremento de dobles haploides y en el número de mazorcas producidas.

De acuerdo con Polci, *et al* (s.f) la colchicina es el agente diploidizante más importante, este actúa bloqueando el ensamblaje de la tubulina que forman los microtúbulos del huso acromático, mientras Santel, (2012) describe que la cipro sulfamida trabaja en herbicidas del grupo de la sulfonilureas, se desarrolló junto al herbicida Thiencarbazone methyl el cual es un inhibidor de la acetolactato sintetasa (Inhibidores de la síntesis de aminoácidos), son dos sitios y mecanismos de acción distintos, de esta manera puede considerarse una de las posibles razones por las que no hubo un efecto sobre las variables evaluadas.

2.6. CONCLUSIONES

1. La altura y el porcentaje de sobrevivencia no se vieron afectados con la aplicación de las tres dosis evaluadas de protectores del efecto herbicida en el área de aclimatación de plantas de maíz.
2. Las dosis evaluadas de ciprosulfamida y Syngenta® 5305287 no generaron una diferencia significativa en la altura de plantas en el área de incremento de dobles haploides.
3. Las dosis evaluadas de ciprosulfamida y Syngenta® 5305287 no generaron una diferencia significativa sobre el número de mazorcas producidas por unidad experimental.

2.7. RECOMENDACIONES

1. Utilizar dosis más altas (3 mg/L, 6 mg/L y 8 mg/L de ciprosulfamida y Syngenta® 5305287 y combinaciones.
2. Establecer unidades experimentales con mayor número de plantas (por lo menos 200 plantas/unidad experimental)
3. Evaluar los productos y dosis en post tratamiento de colchicina, es decir previo a sembrar los embriones en el medio de cultivo.
4. Estandarizar criterios de eliminación de escapes¹ (realizar este proceso hasta que la inflorescencia masculina haya emergido y observar anillado purpura en la base de las espiguillas).

¹ Plantas diploides que no presentaron pigmentación púrpura en el proceso de selección de haploides en laboratorio.

2.8. BIBLIOGRAFÍA

1. Bolaños González, F. C. (2014). *Evaluaciones y activades realizadas en maíz (Zea mays L.) doble haploide en el Centro de Investigaciones de Cultivos (R&D), Syngenta, Jalapa, Jalapa. (Informe Prácticas Agr. Forest. Supervisadas)* . Guatemala: ENCA.
2. Chase, S. (1947). Techniques for isolating monoploid maize plants. *American Journal Botany*, 34, 582.
3. Coe, E., & Sarkar, K. (1964). The detecion of haplids in maize. *Journal of Heredity*, 55 (5), 231–233.
4. Davies, J. (2001). *Herbicide safeners: Commercial products and tools for agrochemical research*. Obtenido de Pesticide Outlook, no. 1, 10-15: <http://www.researchinformation.co.uk/pest/2001/B100799H.PDF>
5. Falguenbaum Morgenstern, H.; Mouat Zunino, P. (1998). Maíz. *In Biología de cultivos anuales: Cereales*. Chile: Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal y Departamento de Desarrollo Académico de SECICO. Obtenido de Universidad Católica de Chile: http://www7.uc.cl/sw_educ/cultivos/index6.htm
6. Universitat Autònoma de Barcelona. (). Tema 13: Cambios cromosómicos, numéricos y estructurales. Obtenido de <https://www.studocu.com/es/document/universitat-autonoma-de-barcelona/genetica/apuntes/tema-13-cambios-cromosomicos-numericos-y-estructurales/2390692/view>
7. Gordillo, G. A., & Geiger, H. H. (2008). *Alternative recurrent selection strategies using doubled haploids lines in hybrid maize breeding*. Obtenido de Crop Science, 48(3): https://www.researchgate.net/publication/255639924_Alternative_Recurrent_Selection_Strategies_Using_Doubled_Haploid_Lines_in_Hybrid_Maize_Breeding

8. Hantzschel, K. R., & Wenber, G. (2010). *Blockage of mitosis in maize root tips using colchicine-alternatives*. Obtenido de Protoplasma, 241(1-4), 99-104:
https://www.researchgate.net/publication/41402370_Blockage_of_mitosis_in_maize_root_tips_using_colchicine-alternatives
9. Informaciones Agronómicas. (2016). *Esquema del desarrollo y crecimiento del cultivo de maíz*. Obtenido de Informaciones Agronómicas:
<http://agronoticias2012.blogspot.com/2016/03/esquema-del-desarrollo-y-crecimiento.html>
10. Kraehmer, H. V. (2014). Herbicides as weed control agents: state of the art: I. weed control research and safener technology: the path to modern agriculture. *American Society of Plant Biologists*, 166, 1132-1148.
11. Ministerio de Educación de España. (2010). *Nutrición vegetal*. Obtenido de Blog del proyecto Biosfera:
http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/1bachillerato/reino_vegetal/contenidos3.htm
12. Paliwal, R. L. (2001). *Mejoramiento del maíz híbrido*. Obtenido de El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Italia, FAO:
http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s16.htm#PO_0
13. Polci, P., Conti, V., & Miranda, R. (2010). *Métodos para acelerar programas de mejoramiento e identificación varietal*. Obtenido de Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología (ArgenBio): <http://www.biblioteca.org.ar/libros/150413.pdf>
14. Prasana, B., Chaikam, V., & Mahuku, G. (2013). *Tecnología de dobles haploides en el mejoramiento de maíz: teoría y práctica*. México: CIMMYT.
15. Ramírez, R. (2016). Manejo de plantas en fase de endurecimiento pos tratamiento de laboratorio de rescate de embriones. (Jalapa, Jalapa, Guatemala, Syngenta, Centro de Investigación de Cultivos, Manager

Lab, Laboratorio de rescate de embriones) . (V. M. Carías, Entrevistador)

16. Rosinger, C. (2014). *Herbicide safeners: an overview*. Frankfurt am Main, Alemania: Bayer CropScience.
17. Santel, H. J. (2012). *Thiencarbazone-methyl (TCM) and Cyprosulfamide (CSA)-a new herbicide and a new safener for use in corn*. Obtenido de German Conference on Weed Biology and Weed Control (25., 2012, Braunscheweing, Germany): <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123226588>
18. Segura, G. (2011). *DMSO: aplicaciones del dimetil sulfoxido para la medicina*. Obtenido de: Enfoque Sott, <http://es.sott.net/article/4995-DMSO-solucion-milagrosa-y-un-antidoto-para-el-envenenamiento-por-radiacion>
19. Solórzano P, P. R. (1976). *Determinación de área foliar en sorgo granero (Sorghum bicolor (L.) M.) a diferentes edades*. Obtenido de Agronomía Tropical, 26(1), 39-45: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at2601/arti/solorzano_p.htm
20. Falguenbaum Morgenstern, H.; Mouat Zunino, P. (1998). Semillas. *In* Biología de cultivos anuales: Cereales: Maíz. Chile: Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal y Departamento de Desarrollo Académico de SECICO. Obtenido de Universidad Católica de Chile: http://www7.uc.cl/sw_educ/cultivos/cereales/maiz/semillas.htm
21. Universidad de Navarra. (2008). *Cambios cromosómicos numéricos*. Obtenido de Universidad de Navarra: <http://www.unavarra.es/genmic/genetica%20y%20mejora/cambios%20cromosomicos/Cambios%20cromosomicos%20numericos%20II.htm>

22. USDA. (2018). *Coarse grains*. Obtenido de USDA, Foreign Agricultural Service, Grain: World Markets and Trade: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain-corn-coarsegrains.pdf>
23. Valladares, C. A. (2010). *Taxonomía y botánica de los cultivos de grano*. Obtenido de Honduras, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Departamento de Producción Vegetal, Cultivos de Grano: http://institutorubino.edu.uy/materiales/Federico_Franco/6toBot/unidad-ii-taxonomia-botanica-y-fisiologia-de-los-cultivos-de-grano-agosto-2010.pdf

CAPÍTULO III

**SERVICIOS REALIZADOS EN EL CENTRO DE
INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS (CIC) DE
SYNGENTA R&D, JALAPA, DURANTE EL
EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO
FEBRERO, NOVIEMBRE 2016**

3.1. PRESENTACIÓN

Este documento presenta los servicios ejecutados durante el Ejercicio Profesional Supervisado, asignados por parte del departamento de investigación del laboratorio del CIC y se ejecutaron bajo las condiciones particulares de centro.

El primer servicio consistió en la evaluación de la aplicación de Tsunami® después del tratamiento de colchicina en embriones de maíz (doblaje cromosómico) y su impacto en la producción de mazorcas en la fase de incremento de doble haploides.

El primer servicio se ejecutó enfocado en mejorar el plan profiláctico dentro del laboratorio, esto debido a que uno de los puntos más importantes dentro del laboratorio es la contaminación de los medios de crecimiento por bacterias y hongos. Sin embargo no hubo una diferencia significativa en la producción de mazorcas al final del proceso de incremento de dobles haploides, es decir que el producto no impacta negativamente en este aspecto, por lo tanto se puede utilizar como parte del plan profiláctico del laboratorio.

El segundo servicio consistió en la evaluación del número de días de aclimatación de las plantas inducidas a doble haploides según su categoría (categoría 1: 5.5 cm – 7 cm, categoría 2: 3.6 cm – 5.5 cm, categoría 3: 2 cm – 3.5 cm) y cómo impacta en la producción de mazorcas dobles haploides en el área de incremento de dobles haploides, además de determinar el número óptimo de días de aclimatación para las plantas de maíz.

Se utilizaron 4 niveles del factor A (15 d, 20 d, 25 d, 30 d) y los niveles para el factor B fueron 3, según las categorías explicadas en el párrafo anterior. Las variables respuesta fueron número de mazorcas con más de 50 granos y número de mazorcas totales.

Según los resultados las categorías 2 y 3 producen un mayor número de mazorcas de 50 granos respecto que la categoría 1. Además se determinó que el número de días óptimo para aclimatación puede ir de 15 d a 20 d.

El análisis integrado de categorías y días de aclimatación indicó que las plantas de categoría 2 y categoría 1 con 15 días de aclimatación son las que producen mayor cantidad de mazorcas.

3.2. EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE TSUNAMI® DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE COLCHICINA EN EMBRIONES DE MAÍZ (*ZEA MAYZ* L.) SOBRE EL IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN DE MAZORCAS DOBLE HAPLOIDES EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS DE SYNGENTA R&D.

3.2.1. Problema

La contaminación de los embriones de maíz (*Z. mays* L.K), causa pérdidas en la producción de plantas doble haploides, después del tratamiento de colchicina es un punto clave para cortar cualquier contaminación que puedan contener los embriones, sin embargo se desconoce si la aplicación de Tsunami® tiene efecto en el desarrollo de las plantas doble haploides y si repercute en la producción de mazorcas.

3.2.2. Objetivo

Determinar si la aplicación de Tsunami® en embriones doble haploides después del tratamiento de colchicina tiene un impacto negativo en la producción de mazorcas doble haploides.

3.2.3. Metodología del proceso de producción

Se siguieron los siguientes pasos en el desarrollo de las investigaciones:

A. Desinfección de mazorcas

Se utilizaron 10 materiales genéticos de maíz para realizar esta prueba, el primer paso fue desinfectar las mazorcas provenientes del área de inducción de haploidía según el protocolo interno de la empresa, estas se encontraban en un estado lechoso/masoso (estado vegetativo entre R3 y R4).

B. Extracción de embriones

Las mazorcas desinfectadas se pasaron por el área de extracción de embriones, las mazorcas se procesaron cortando la epidermis del grano lechoso/masoso tratando de no dañar o cortar los embriones, luego utilizando una espátula se extrajeron individualmente y se colocaron doscientos embriones por cada cajita petri a los cuales se les agregó medio de cultivo líquido y posteriormente se colocaron bajo luz durante 24 h.

C. Selección de embriones

Después de expuestos a la luz los embriones se seleccionaron en base a marcador de pigmentación de antocianina, únicamente se trasladaron a cajas petri nuevas los embriones sin pigmentación (embriones haploides). Después se trasladaron a condiciones de baja temperatura y oscuridad durante 48 horas.

Es importante mencionar que los embriones utilizados para esta evaluación eran parte de la producción normal y a partir de esta fase se seleccionaron al azar 150 embriones por cada unidad experimental (3 cajas petri) de cada material genético.

D. Reposición o “replenishment”

El “replenishment” consiste en la activación celular utilizando medio de cultivo líquido y después sometiendo a luz durante 24 h.

E. Tratamiento de colchicina

El tratamiento de colchicina consistió en agregar una solución con líquida de colchicina por un lapso de tiempo.

F. Enjuague de colchicina

Después de realizar el tratamiento de colchicina, se realizó el proceso de enjuague, se utilizaron dos tratamientos, el tratamiento 1 fue la solución normal de enjuague y adicionalmente se agregó Tsunami® y el tratamiento 2 con la solución normal de enjuague (sin Tsunami).

G. Siembra de embriones

Los embriones se sembraron en medio sólido MS en contenedores, se agregaron 25 embriones por contenedor (6 contenedores por unidad experimental).

H. Fase de crecimiento de plantas

Los contenedores estuvieron 2 semanas bajo condiciones controladas de luz y temperatura hasta que el 80 por ciento de las plantas alcanzaron un $\frac{3}{4}$ de la altura del contenedor.

I. Selección y siembra en sustrato

Dos semanas después de la germinación se trasladaron las plantas al área de aclimatación se seleccionaron y se trasplantaron en bandejas según la producción normal, las bandejas se ubicaron en las bancas de crecimiento según el diseño experimental utilizado.

Estuvieron 4 días en sombra, luego se trasladaron al área de sol directo en el área de aclimatación.

J. Conteo de plantas

Se contabilizaron al finalizar el trasplante en sustrato, luego se contabilizaron nuevamente previo a ser trasladadas a campo definitivo para determinar el porcentaje de sobrevivencia.

K. Aclimatación de plantas

Las plantas pasaron durante 15 días en el área de aclimatación antes de salir a campo definitivo.

L. Trasplante en campo definitivo (Incremento de dobles haploides)

Se trasladaron a campo definitivo identificadas según la población, tratamiento y repetición correspondiente.

M. Manejo agronómico

Consistió en la asistencia para el control de plagas y enfermedades, fertilización, riego y control de malezas, durante todo el proceso de incremento de doble haploides.

N. Autopolinizado

La autopolinización se realizó según las prácticas comunes, aislando el jilote antes que los estigmas salgan, luego aisló la inflorescencia masculina y finalmente se autopolinizó.

O. Cosecha y conteo

La cosecha se realizó al finalizar el ciclo, luego se contabilizaron las mazorcas y se clasificaron por grupos las mayores y menores de 50 granos.

3.1.3. Metodología experimental

La metodología experimental consistió en todo el proceso estadístico para analizar las variables respuesta propuestas.

1. Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques al azar con tres repeticiones y arreglo en parcelas divididas, considerando en las parcelas grandes los materiales de maíz. En las parcelas pequeñas se realizó una aleatorización de los tratamientos (Tratamiento 1: Enjuague con Tsunami®, Tratamiento 2: Enjuague sin Tsunami®). En el croquis se muestra más detallado la distribución de los tratamientos.

El modelo estadístico matemático asociado a este experimento, se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + (\alpha\rho)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Siendo:

Y_{ijk} = variables de respuesta medidas en la ijk -ésima unidad experimental
 μ = Media general

β_j = Efecto del j -ésimo bloque

α_i = Efecto del i -ésimo material genético de maíz

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i -ésimo material genético de maíz con el j -ésimo bloque, que es utilizado como residuo de parcelas grandes y es representado por error_(a)

ρ_k = Efecto del k -ésimo nivel del factor B

$(\alpha\rho)_{ik}$ =Efecto debido a la interacción del i -ésimo tipo del germoplasma con el k -ésimo nivel del factor B.

ε_{ijk} = Error experimental asociado a la ijk -ésima unidad experimental, es utilizado como residuo a nivel de parcela pequeña, y es definido como: Error_(b)

2. Factores de estudio y sus niveles

a. Factor A: Poblaciones o materiales genéticos

Para el factor se consideraron 10 materiales genéticos de maíz, que corresponde a 10 niveles del factor A, estos son parte de la producción normal de dobles haploides de maíz.

b. Factor B: Tratamientos de Tsunami®

Para el factor B hubieron dos niveles, este tratamiento se realizó en la fase de tratamiento de colchicina, uno con presencia de Tsunami® y otro con ausencia.

Tratamiento 1: Con Tsunami

Tratamiento 2: Sin Tsunami

3. Descripción de la unidad experimental

La unidad experimental se estableció previo a la aplicación del tratamiento y se definió un tamaño de 150 embriones sembrados en medio sólido (6 contenedores, 25 embriones/contenedor), posteriormente se dio seguimiento a cada unidad por separado en el proceso de aclimatación y en fase de incremento de dobles haploides.

4. Distribución de las unidades experimentales

Las unidades experimentales fueron distribuidas aleatoriamente y se utilizó el siguiente esquema para todas las fases desde laboratorio, aclimatación e incremento de dobles haploides.

Rep. 1	P1 T2	P2 T1	P3 T1	P4 T1	P5 T1	P6 T2	P7 T1	P8 T2	P9 T1	P10 T1
	P1 T1	P2 T2	P3 T2	P4 T2	P5 T2	P6 T1	P7 T2	P8 T1	P9 T2	P10 T2
Rep. 2	P1 T2	P2 T2	P3 T2	P4 T2	P5 T2	P6 T1	P7 T2	P8 T1	P9 T2	P10 T2
	P1 T1	P2 T1	P3 T1	P4 T1	P5 T1	P6 T2	P7 T1	P8 T2	P9 T1	P10 T1
Rep. 3	P1 T1	P2 T1	P3 T2	P4 T1	P5 T2	P6 T1	P7 T1	P8 T2	P9 T1	P10 T1
	P1 T2	P2 T2	P3 T1	P4 T2	P5 T1	P6 T2	P7 T2	P8 T1	P9 T2	P10 T2

Fuente: Protocol experiment Tsunami after colchicine

Figura 24. Croquis de campo de aleatorización de unidades experimentales.

5. Variables respuesta

A pesar que la evaluación se enfocó a determinar si había un impacto en la producción de mazorcas por el uso de Tsunami® en el lavado de colchicina, se tomaron otros datos durante las fases productivas, las variables más relevantes para realizar un ANOVA fueron:

1. Porcentaje de sobrevivencia en aclimatación.
2. Total de mazorcas dobles haploides producidas.
3. Mazorcas dobles haploides con más de 50 granos.
4. Mazorcas dobles haploides con menos de 50 granos.

6. Toma de datos

Los datos de sobrevivencia fueron tomados realizando conteos manualmente e ingresando la información a un formato (ver anexo), la información del área de incremento de dobles haploides y de cosecha fueron colectados por las personas correspondientes de cada área.

7. Análisis de la información

Los datos colectados fueron analizados utilizando el software Infostat®, para el cual se realizó un análisis de varianza para las variables planteadas y un análisis de post ANDEVA.

3.2.4. Análisis y resultados

El análisis de los resultados de las variables respuestas se enfocó en los niveles del factor B. El factor A (Poblaciones) no es un factor de relevancia y únicamente se incluyó como un factor para bloquear el efecto de las poblaciones de maíz utilizadas en la evaluación.

Para la variable porcentaje de sobrevivencia, no hay diferencia significativa para los 2 niveles del factor B (Tratamiento 1: Enjuague con Tsunami®, Tratamiento 2: enjuague sin Tsunami®), sin embargo se realizó una prueba de Tukey y los tratamientos poseen las mismas literales, por lo tanto los tratamientos de enjuague tienen el mismo efecto en el porcentaje de sobrevivencia de plantas en el área de aclimatación. (ver figura 26 y cuadro 11)

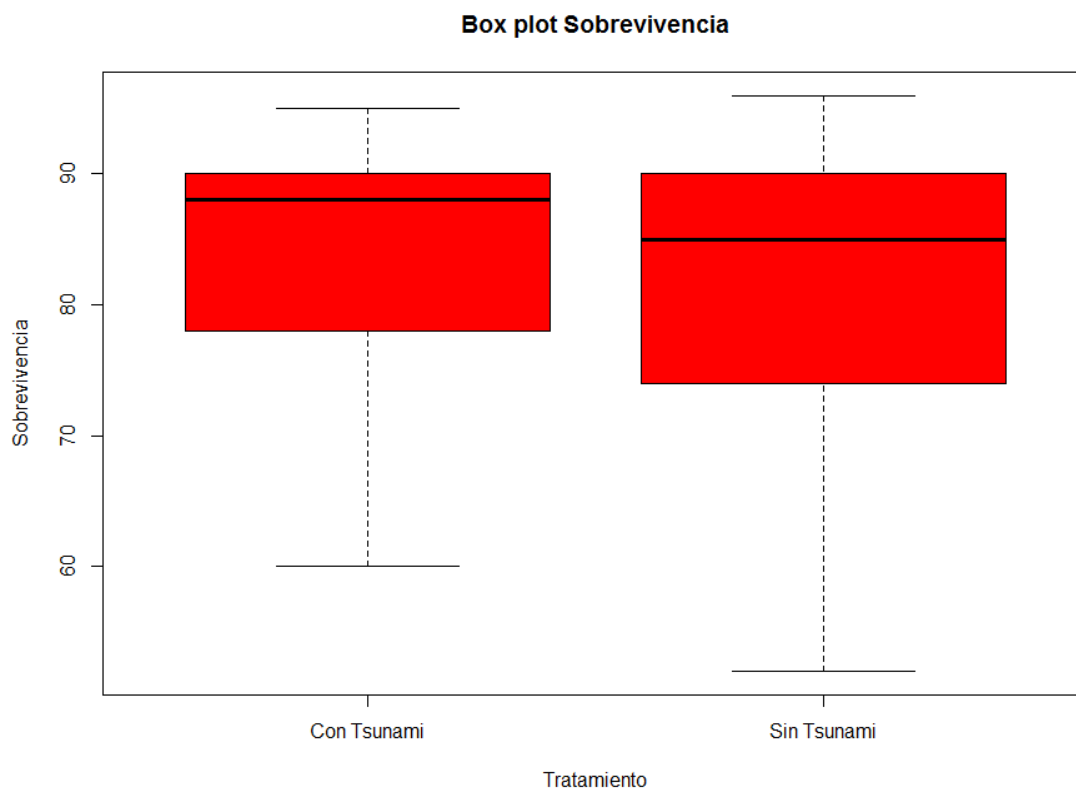


Figura 25. Box plot de porcentaje de sobrevivencia en área de aclimatación de plantas de maíz.

Cuadro 11 se presenta el resumen del análisis de varianza para el porcentaje de sobrevivencia medido en los dos tratamientos evaluados. En el resumen no se presenta una diferencia significativa para los tratamientos evaluados.

Cuadro 11. Análisis de varianza para la variable porcentaje de sobrevivencia.

F.V	GL	SC	CM	F	Valor de p
Población	9	2669.4	296.59	2.92	0.0255 (P*B)
Bloque	2	154.5	77.27	1.11	0.3475
P*B(Int)	18	1830.8	101.71	1.47	0.2026
Trat.	1	36.8	36.82	0.53	0.4745
Error	20	1386.0	69.30		
Total	59	7334.2			

Sin embargo se realizó una prueba de Tukey para determinar si encontraba una diferencia significativa en la sobrevivencia de plantas, sin embargo no hay (ver cuadro 12). En términos prácticos podría definirse que la aplicación del desinfectante Tsunami® no genera ningún impacto en la sobrevivencia de las plantas de maíz.

Cuadro 12. Test de Tukey para el porcentaje de sobrevivencia de plantas de maíz, $\alpha = 0.05$, Diferencia mínima significativa = 4.4836

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Literal
Con Tsunami	83.57	30	1.52	A
Sin Tsunami	82	30	1.52	A

Para la variable número de mazorcas totales, no se encontró diferencia significativa para los 2 niveles del factor B (Tratamiento 1: Enjuague con Tsunami®, Tratamiento 2: enjuague sin Tsunami®) . (ver figura 27)

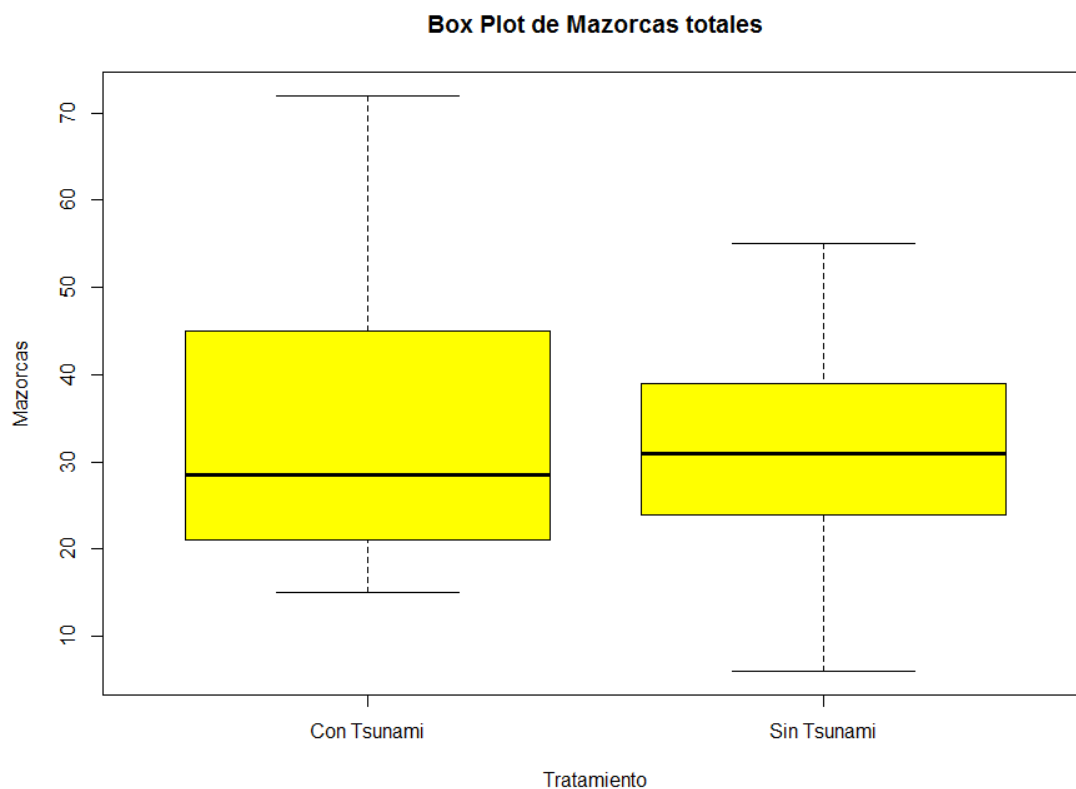


Figura 26. Box plot para la variable respuesta número de mazorcas totales.

En análisis de varianza presentado en el Cuadro 13, muestra que no hay diferencia significativa en la producción de mazorcas totales, es decir que no hay influencia de la desinfección sobre la producción de mazorcas en el área de incremento de dobles haploides.

Cuadro 13. Análisis de varianza para la variable número de mazorcas totales.

F.V.	Gl	SC	CM	F	p-valor
Población	9	5590.73	621.19	13.68	<0.0001
Bloque	2	376.63	188.32	2.05	0.1547
P*B(Int)	18	817.37	45.41	0.49	0.9305
Tratamiento	1	101.4	101.4	1.1	0.3057
Error	20	1835.33	91.77		
Total	59	9768.73			

Para corroborar se realizó una prueba de Tukey a los tratamientos , en el siguiente cuadro se presenta el resumen de dicho análisis, donde se demuestra nuevamente que no hay influencia de la desinfección de los embriones en la producción de mazorcas. (ver cuadro 14)

Cuadro 14. Test de Tukey para el número total de mazorcas, alfa =0.05, Diferencia Mínima Significativa = 5.15945

Tratamiento	Medias	n	E.E.	Literal
Con Tsunami	33.73	30	1.75	A
Sin Tsunami	31.13	30	1.75	A

En base a los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas la adición Tsunami® en el enjuague después del tratamiento de colchicina no tiene ningún efecto significativo en ninguna de las variables respuesta evaluadas; es importante considerar que el efecto del Tsunami® podría haber tenido un efecto en el porcentaje de sobrevivencia debido a que es el proceso posterior al tratamiento, sin embargo los datos mostraron lo contrario.

En la figura 25 de box plot muestra los datos de sobrevivencia los cuales se comportaron muy dispersos y por tal razón se puede considerar realizar la evaluación nuevamente para medir este efecto. Por otro lado el efecto de la adición de Tsunami® al enjuague de los embriones, pudo haberse diluido por el efecto del proceso de producción en la fase de incremento de dobles haploides.

3.2.5. Conclusiones

La aplicación de Tsunami® en los embriones doble haploides después del tratamiento de colchicina no tiene efecto negativo en la producción de mazorcas doble haploide.

3.3. EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE DÍAS DE ACLIMATACIÓN Y POR CATEGORÍA DE PLANTAS DOBLE HAPLOIDES DE MAÍZ (*ZEA MAYS* L.) EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CULTIVOS DE SYNGENTA R&D.

3.3.1. Problema

Antes de la fase de aclimatación las plantas se clasifican en tres categorías (categoría 3: 2 cm - 3.5 cm, categoría 2: 3.6 cm – 5.5 cm, categoría 1: 5.5 cm – 7 cm), luego pasan 15 días en el área antes de salir a campo tomando como referencia la condición de las plantas categoría 2 y 3 para trasladarlas a campo pero se desconoce el efecto que provoca incrementar el número de días de aclimatación por categoría en la producción de mazorcas.

3.3.2. Objetivo

1. Determinar si el número de días en aclimatación tiene un efecto sobre cada categoría.
2. Determinar si existe un efecto de producción de mazorcas doble haploides según la categoría de plantas en el área de aclimatación.
3. Determinar el número óptimo de días en aclimatación para las plantas doble haploides de maíz (*Zea mays* L.).

3.3.3. Metodología del proceso

A. Clasificación por categorías de las plantas

Los materiales de maíz utilizados fueron parte de la producción normal y para realizar la evaluación se utilizaron excedentes de plantas, primero se llenaron los requerimientos de plantas para la producción.

Las plantas fueron clasificadas por categorías (categoría 3: 2 cm - 3.5 cm, categoría 2: 3.6 cm – 5.5 cm, categoría 1: 5.5 cm – 7 cm) según los parámetros del proceso antes de ser trasplantadas en bandejas.

B. Trasplante a bandejas

Las plantas clasificadas se trasplantaron en bandejas para iniciar la fase de aclimatación, a partir de este punto se seleccionaron los excedentes de producción reclasificando las plantas, para la unidad experimental se seleccionaron 50 plantas por cada categoría para los tratamientos establecidos (se detalla más en la metodología experimental). Antes de pasar al área de sol las plantas pasaron alrededor de 4 días en sombra para evitar la deshidratación.

C. Aclimatación de plantas

El tiempo que permaneció cada grupo de plantas dependió de los tratamientos definidos, en la metodología experimental se detallan los tratamientos, al cumplir los días establecidos cada grupo de plantas fue trasladado a campo para ser trasplantado para el incremento de dobles haploides.

D. Manejo agronómico

Consistió en la asistencia para el control de plagas y enfermedades, fertilización, riego y control de malezas, durante todo el proceso de incremento de doble haploides.

E. Autopolinizado

Se realizó según las prácticas comunes, aislando el jilote antes que los estigmas salgan, luego aisló la inflorescencia masculina y finalmente se autopolinizó.

F. Cosecha y conteo

La cosecha se realizó al finalizar el ciclo, luego se contabilizaron las mazorcas totales y se clasificaron por grupos las mayores y menores de 50 granos para cada unidad experimental.

3.3.4. Metodología experimental

Al inicio no se consideró tomar las categorías de plantas como un factor a evaluar, por esa razón la información de los tres primeros materiales se analizaron distinto al resto de las poblaciones, el diseño experimental para el resto de las poblaciones se detalla a continuación.

A. Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques al azar con 7 repeticiones y arreglo en parcelas divididas, considerando en las parcelas grandes el tratamiento del factor A correspondiente al número de días en aclimatación. En las parcelas pequeñas se realizó una aleatorización de las plantas por categoría con tres niveles.

El modelo estadístico matemático asociado a este experimento, se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + (\alpha\rho)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Siendo:

Y_{ijk} = variables de respuesta medidas en la ijk -ésima unidad experimental

μ = Media general

β_j = Efecto del j -ésimo bloque

α_i = Efecto del i -ésimo tratamiento del factor A

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i -ésimo tratamiento del factor A con el j -ésimo bloque, que es utilizado como residuo de parcelas grandes y es representado por error_(a)

ρ_k = Efecto del k -ésimo nivel del factor B

$(\alpha\rho)_{ik}$ = Efecto debido a la interacción del i -ésimo tratamiento con el k -ésimo nivel del factor B.

ε_{ijk} = Error experimental asociado a la ijk -ésima unidad experimental, es utilizado como residuo a nivel de parcela pequeña, y es definido como: Error_(b)

B. Factores de estudio y sus niveles

1. Factor A: Número de días en aclimatación

Los niveles del factor A fueron los siguientes:

1. *Tratamiento 1: 15 días*
2. *Tratamiento 2: 20 días*
3. *Tratamiento 3: 25 días*
4. *Tratamiento 4: 30 días*

2. Factor B: Categorías de plantas

Para el factor B los niveles fueron definidos por las categorías de plantas según los parámetros de producción.

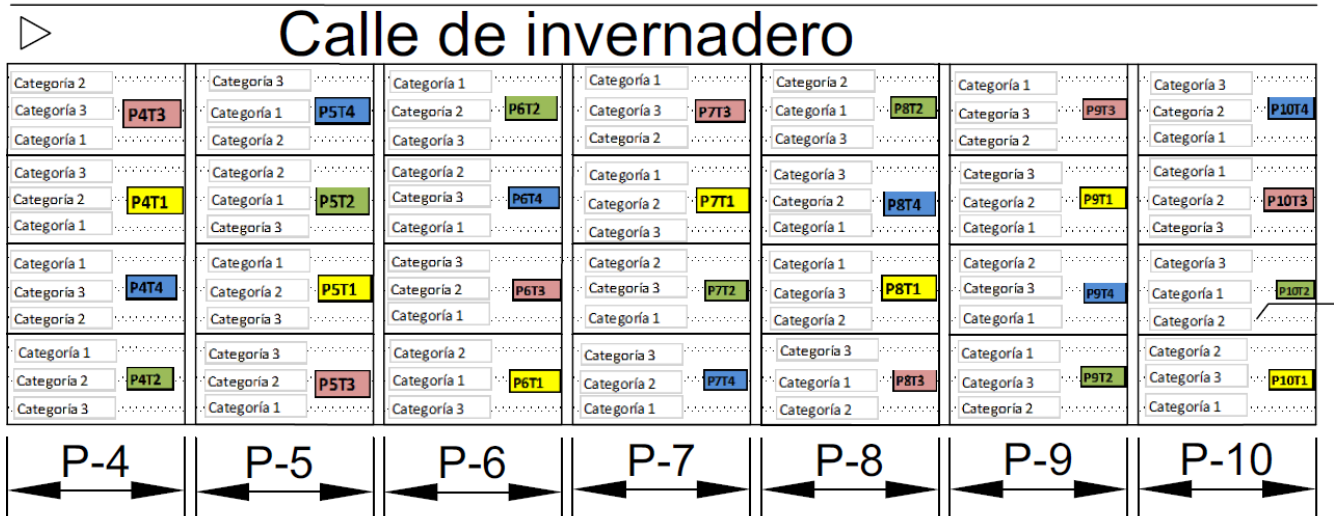
1. *Tratamiento 1: Categoría 1*
2. *Tratamiento 2: Categoría 2*
3. *Tratamiento 3: Categoría 3*

C. Descripción de la unidad experimental

La unidad experimental fueron 50 plantas, por cada combinación de material/tratamiento y categoría, es decir 50 plantas por parcela pequeña, 150 plantas por parcela grande y 600 plantas por bloque.

D. Distribución de las unidades experimentales

En el croquis de campo se aleatorizaron las parcelas grandes y luego las parcelas pequeñas. La figura 27 muestra la distribución en campo del bloque 4 al bloque 10 (7 materiales)



Fuente: Protocol experiment Days in Hardening

Figura 27. Croquis de campo para las 7 poblaciones bajo el arreglo en parcelas divididas.

E. Variables respuesta

1. Número de mazorcas totales producidas
2. Número de mazorcas con más de 50 granos

F. Análisis de la información

Los datos colectados fueron analizados utilizando el software Infostat® y R, para el cual se realizó un análisis de varianza para las variables planteadas y un análisis de post ANDEVA.

G. Análisis y resultados

El primer análisis de varianza fue enfocado a la variable número de mazorcas con más de 50 granos, donde el cuadro 15, muestra que el factor categorías sí presenta diferencia significativa en cuanto al número de mazorcas con más de 50 granos.

Cuadro 15. Resumen de análisis de varianza para variable número de mazorcas con más de 50 granos, los factores son días de hardening y categoría de plantas.

F.V.	Gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	35	683.33	19.52	2.68	0.0008
TRATAMIENTO	3	40.1	13.37	2.12	0.1336
POBLACIÓN	6	285.95	47.66	6.54	<0.0001
TRATAMIENTO*POBLACIÓN	18	113.57	6.31	0.87	0.6182
CATEGORÍA	2	148.6	74.3	10.2	0.0002
TRATAMIENTO*CATEGORÍA	6	95.12	15.85	2.18	0.0616
Error	48	349.62	7.28		
Total	83	1032.95			

A partir del cuadro anterior se realizó una prueba postandeva para determinar qué categoría presentaba un mayor número de mazorcas con más de 50 granos, y como se muestra en el cuadro 16, la categoría 3 produjo un mayor número de mazorcas. (ver figura 30)

Cuadro 16. Resumen de la prueba de Tukey para la variable de respuesta número de mazorcas con más de 50 granos.

CATEGORÍA	Medias	n	E.E.	
C3	5.75	28	0.51	A
C2	4.32	28	0.51	A
C1	2.5	28	0.51	B

Alfa=0.05 DMS=1.74444

El cuadro del análisis de varianza muestra que la interacción del tratamiento con las categorías está en el límite, es por eso se realizó un análisis post andeva para determinar la combinación que produce el mayor número de mazorcas con más de 50 granos, el cuadro 17 muestra que las plantas de categoría 3 con 20 días de aclimatación producen una mayor cantidad de mazorcas con más de 50 granos.

Cuadro 17. Resumen de prueba de Tukey de los factores de días y categorías para la variable de respuesta, número de mazorcas con más de 50 granos.

TRATAMIENTO	CATEGORÍA	Medias	n	E.E.		
20 D	C3	8.29	7	1.02	A	
15 D	C2	6.29	7	1.02	A	B
25 D	C3	6	7	1.02	A	B
15 D	C3	5.14	7	1.02	A	B
30 D	C2	4.14	7	1.02	A	B
20 D	C2	4.14	7	1.02	A	B
30 D	C3	3.57	7	1.02	A	B
15 D	C1	3.29	7	1.02		B
30 D	C1	2.71	7	1.02		B
25 D	C2	2.71	7	1.02		B
20 D	C1	2.14	7	1.02		B
25 D	C1	1.86	7	1.02		B

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=4.95347

Además del análisis de varianza para las mazorcas con más de 50 granos, también se realizó un análisis de varianza para el total de mazorcas producidas, en el cuadro 18 se presenta el resumen, donde muestra que sí hay significancia en los tratamientos evaluados, que corresponde al número de días que pasan las plantas en aclimatación, otro factor que también tiene significancia son las categorías.

Cuadro 18. Resumen del análisis de varianza para la variable respuesta, número de mazorcas totales.

F.V.	Gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	35	2165.57	61.87	3.27	0.0001
TRATAMIENTO	3	437.48	145.83	11.43	0.0002
POBLACIÓN	6	1105.45	184.24	9.74	<0.0001
TRATAMIENTO*POBLACIÓN	18	229.69	12.76	0.67	0.8179
CATEGORÍA	2	239.79	119.89	6.34	0.0036
TRATAMIENTO*CATEGORÍA	6	153.17	25.53	1.35	0.254
Error	48	907.71	18.91		
Total	83	3073.29			

A partir del análisis de varianza, se realizó una prueba de Tukey para el factor días de aclimatación (ver cuadro 19), según el análisis las plantas pueden permanecer entre 15 o 20 días en aclimatación sin perjudicar la producción de mazorcas con más de 50 granos.

Cuadro 19. Resumen de prueba de Tukey para número de mazorcas totales.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
15 D	16.48	21	0.78	A
20 D	15.24	21	0.78	A
25 D	11.9	21	0.78	B
30 D	10.95	21	0.78	B

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.11571

Por otro lado se realizó un análisis para comparar qué categorías eran las que producen más mazorcas, según el cuadro 20, las categorías tres y dos son las que producen más mazorcas totales y las plantas categoría uno, las menos productivas.

Cuadro 20. Resumen de Tukey para las categorías, para la variable respuesta número de mazorcas con más de 50 granos

CATEGORÍA	Medias	n	E.E.		
C3	15.89	28	0.82	A	
C2	13.21	28	0.82	A	B
C1	11.82	28	0.82	B	

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.81083

En la figura 29 se muestra el box plot del número de mazorcas con más de 50 granos producidos según las categorías de plantas provenientes del área de aclimatación.

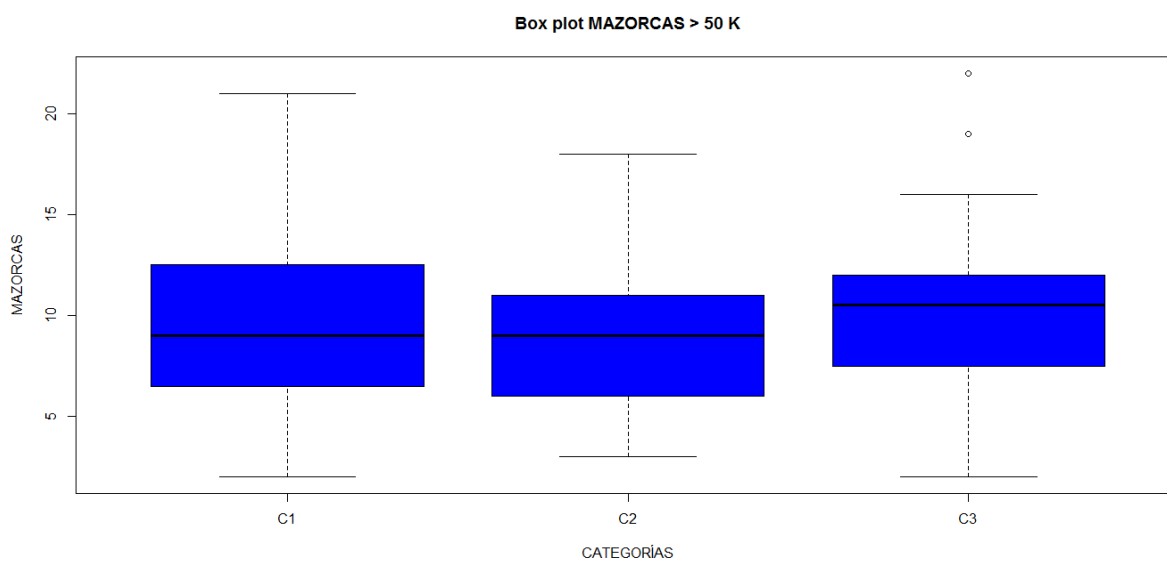


Figura 28. Box plot para mazorcas con más de 50 granos respecto a las categorías.

La figura 30 muestra un box plot del total de mazorcas producidas según las categorías de plantas, en esta figura se observa la tendencia de la producción según las categorías.

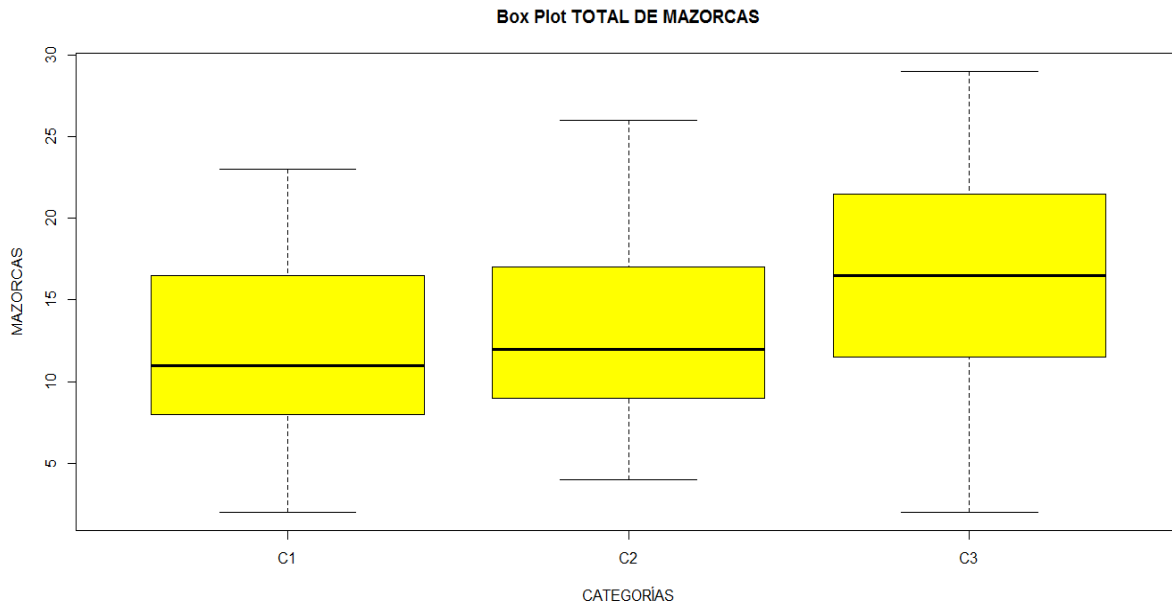


Figura 29. Box plot para el total de mazorcas respecto a las categorías.

La figura 31 muestra un box plot del número de mazorcas con menos de 50 granos, en este caso también es de notar que las plantas de categoría 3 (C3) son las que producen más mazorcas con menos de 50 granos.

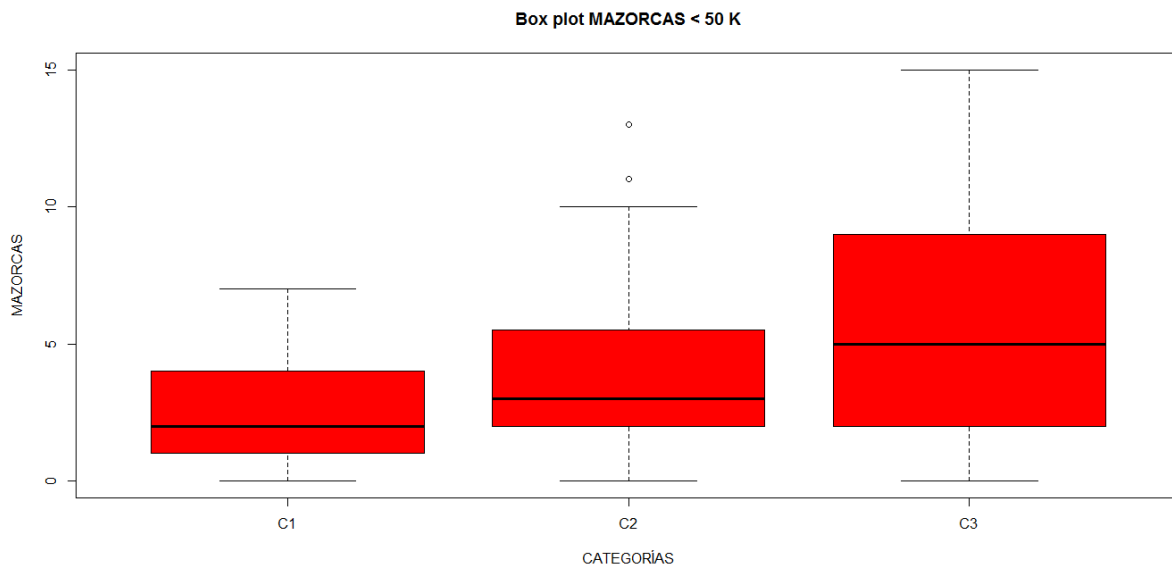


Figura 30. Box plot de mazorcas con menos de 50 granos respecto a las categorías

En la figura 32 se presenta un box plot del número total de mazorcas producidas según el número de días en aclimatación, en este caso se observa una tendencia decreciente del número de mazorcas producidas a medida que se incrementan los días en aclimatación.

En este sentido la gráfica concuerda con la prueba evaluada, según la prueba de Tukey cuando se dejan 15 d en aclimatación las plantas estas producen más mazorcas respecto de los demás tratamientos.

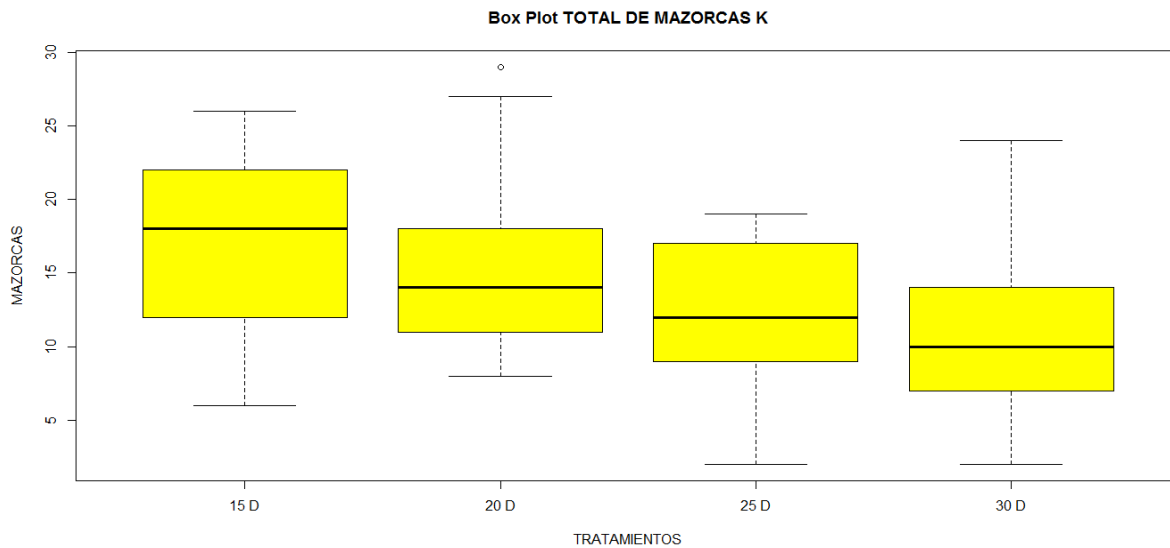


Figura 31. Box plot del total de mazorcas producidas respecto del número de días en aclimatación.

En la gráfica 33 se muestra un box plot del número de mazorcas con más de 50 granos en función de los días de aclimatación y la tendencia es similar a la gráfica 32.

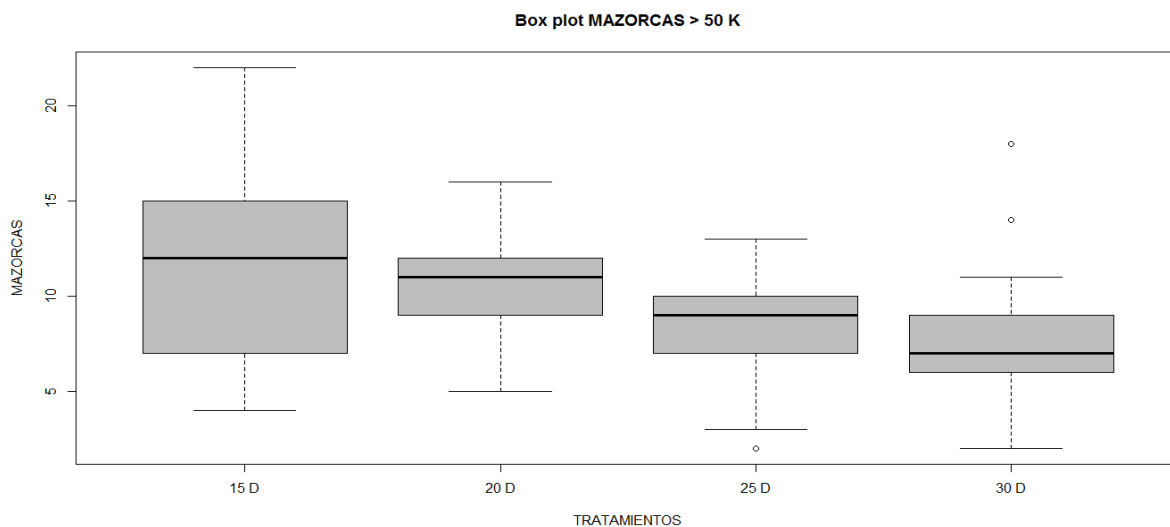


Figura 32 . Box plot para número de mazorcas con más de 50 granos respecto del número de días en aclimatación.

La grafica 35 muestra un box plot del número de mazorcas totales para la combinación de días de aclimatación (factor A) y categoría de plantas (factor B), esta gráfica muestra en función del número total de mazorcas producidas la tendencia decreciente en la medida que se aumenta el número de días de aclimatación.

Sin embargo el número de mazorcas tiende a incrementar cuando el sentido inicia en la categoría uno y termina en la categoría tres.

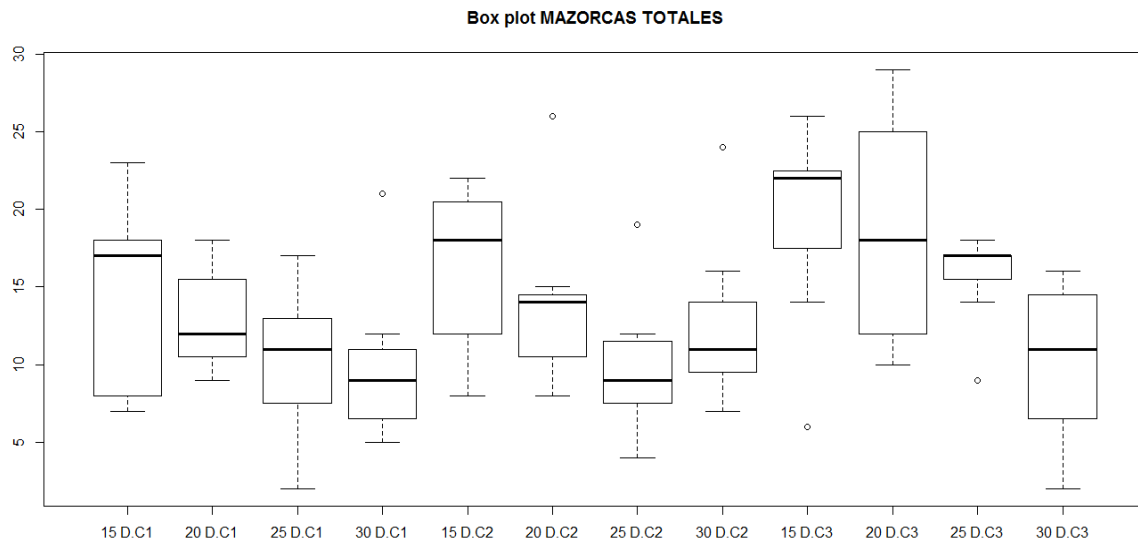


Figura 33. Box plot de mazorcas totales, para la combinación de tratamientos.

En la figura 36 se presenta el box plot para el número de mazorcas con más de 50 granos, en este caso la tendencia es la misma que en la figura 35.

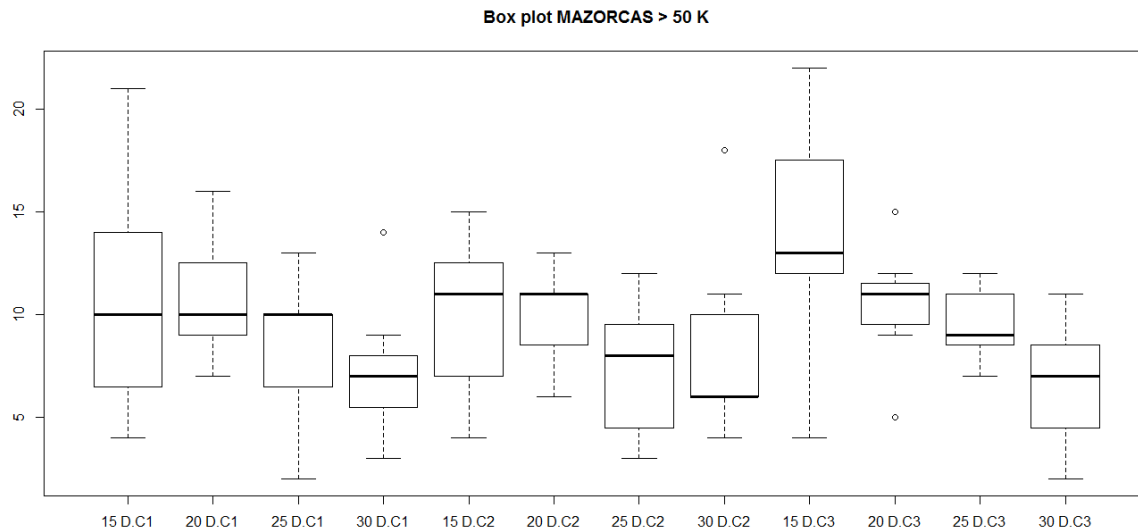


Figura 34. Box plot para número de mazorcas con más de 50 granos

3.3.5. Conclusiones

1. El número de días de aclimatación tiene un efecto significativo en la producción de mazorcas totales y mazorcas con más de 50 granos.
2. Existe un efecto en el número de mazorcas totales y con más de 50 granos según la categoría de plantas, en este caso las categorías con más producción de mazorcas dobles haploides son las categorías 2 y 3.
3. Según el estudio los análisis realizados y observando las tendencias de las gráficas elaboradas, las plantas deben estar de 15 d a 20 d en el área de aclimatación para incrementar la producción de mazorcas en el área de incremento de dobles haploides.

3.4. ANEXOS

3.4.1. Supuestos estadísticos de los análisis de varianza

A. Normalidad

Cuadro 21A. Resumen de pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) de los residuos para las variables respuesta

Variable	Estadístico W	Valor de p
Porcentaje de sobrevivencia	0.97	0.5585
Altura promedio de plantas en aclimatación	0.97	0.4995
Altura promedio de plantas Babies Nursery	0.96	0.2499
Mazorcas totales	0.98	0.7256

B. Homogeneidad de varianza del porcentaje de sobrevivencia en aclimatación

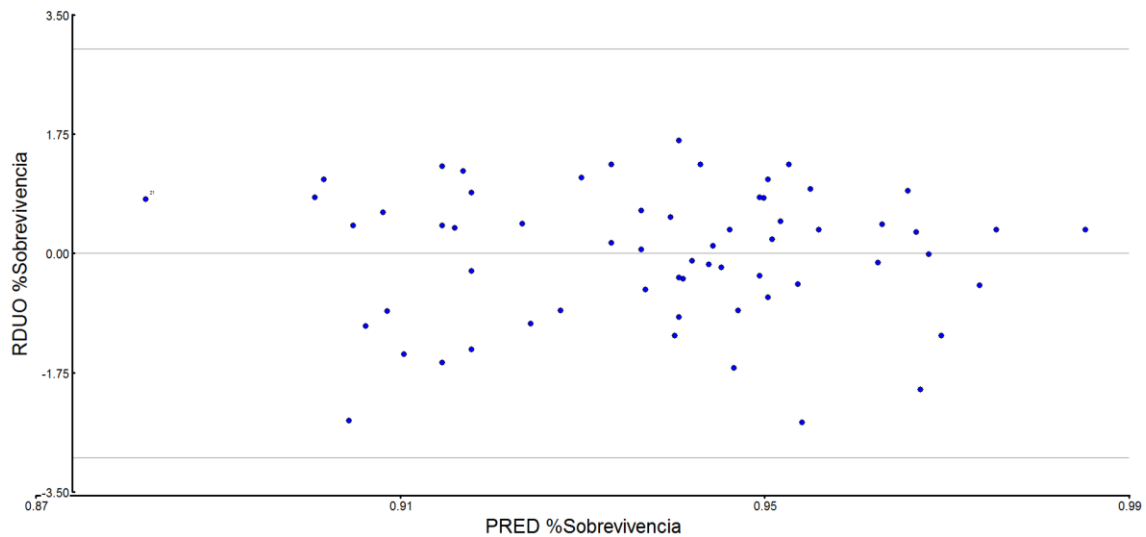


Figura 35A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: porcentaje de sobrevivencia.

C. Homogeneidad de varianza para altura de plantas en área de aclimatación

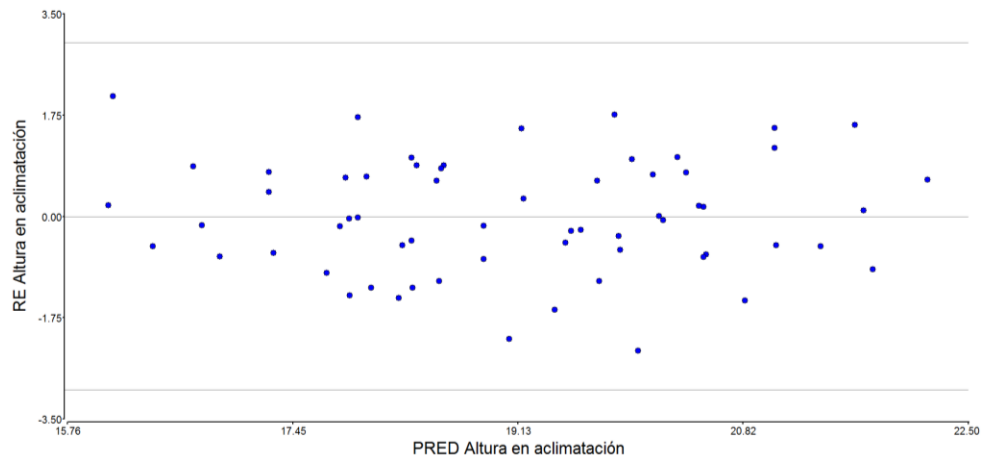


Figura 36A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: altura de plantas en el área de aclimatación

D. Homogeneidad de varianza para altura de plantas en el área de incremento de dobles haploides

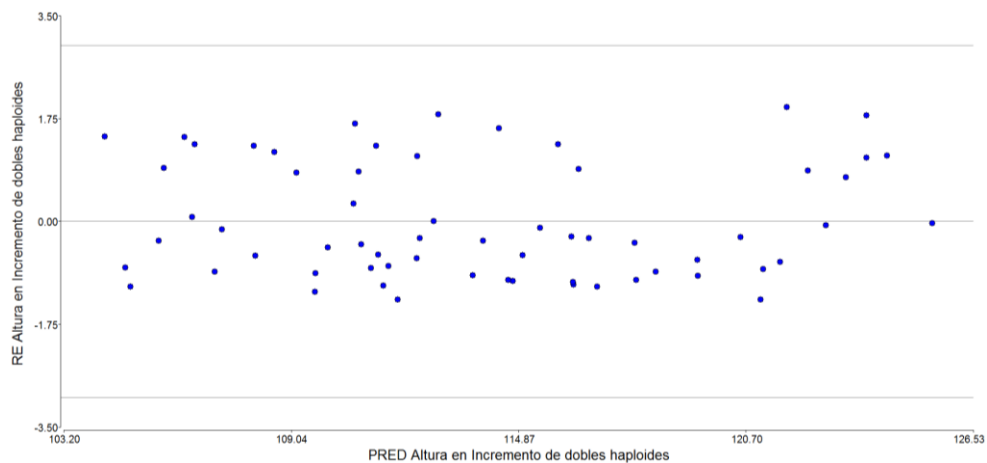


Figura 37A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: altura de plantas en el área de incremento de dobles haploides

E. Homogeneidad de varianza de la variable número de mazorcas en el área de incremento de doble haploides.

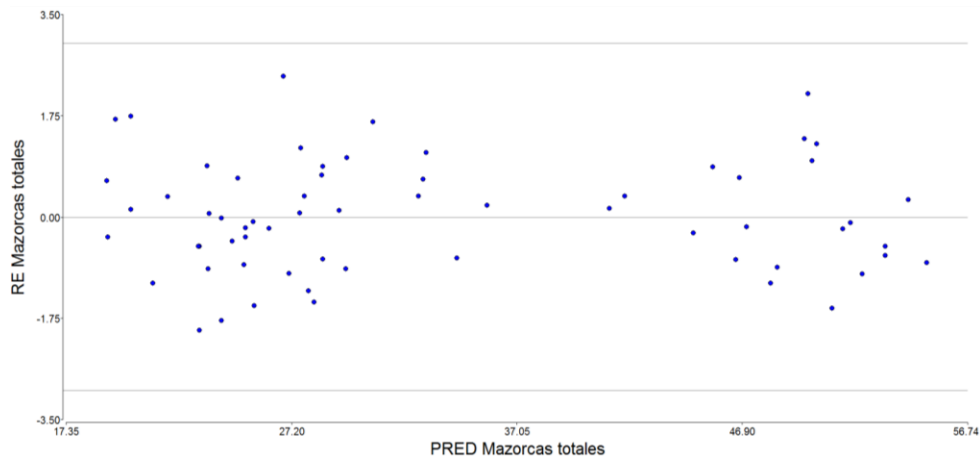


Figura 38A. Diagrama de dispersión para verificar el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas e independencia de residuos, variable: número de mazorcas en el área de incremento de dobles haploides

2.8.1. Fotografías de los distintos procesos durante la evaluación



Figura 39A. Unidades experimentales identificadas en campo.

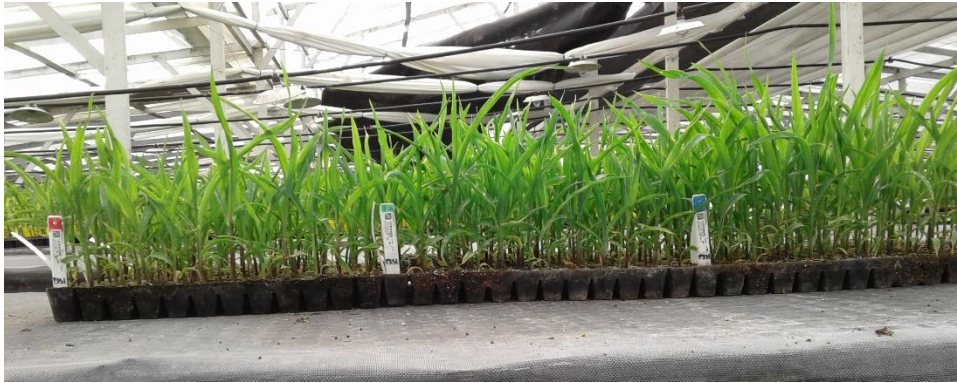


Figura 40A. Unidades experimentales en el área de aclimatación

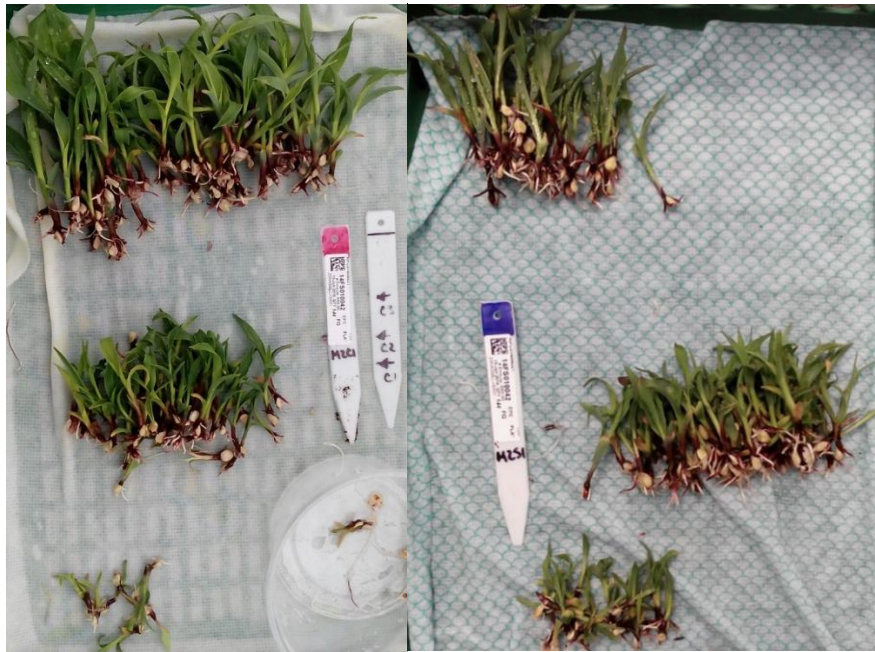


Figura 41A. Plantas recién ingresadas al área de aclimatación, provenientes de laboratorio

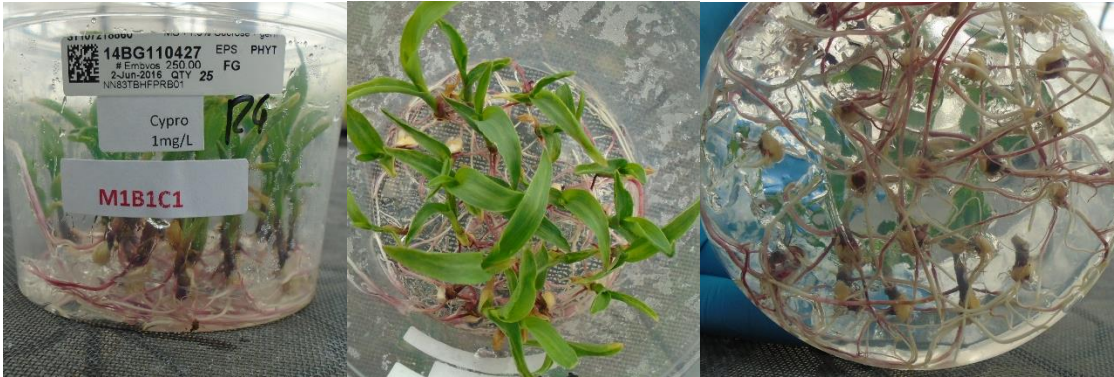


Figura 42A. Contenedor con plantas provenientes de laboratorio después de haber pasado en proceso de doblaje cromosómico.

2.8.2. Cuadros de formatos para colecta de datos finales de la investigación

Cuadro 22A. Formato de toma de datos en el área de aclimatación

Población	MATID	Tratamientos	Dosis	Fecha de extracción	Siembra/Gelrite	Potting	Plantas seleccionadas	Sobrevivencia por categoría	Plantas enviadas	% Sobrevivencia hardening	Altura promedio (cm)
								Cat. 1	Cat. 2	Cat. 3	

Cuadro 23A. Formato de para recolectar datos en el área de cosecha y procesamiento

Cuadro 24A. Datos tabulados para el análisis de estadístico de la evaluación

BLOQUE	MATERIAL	DOSIS	% Supervivencia	Altura promedio Hardening	Altura promedio BN	Mazorcas totales	Descartes	Mazorcas <50k	Mazorcas >50k
1	P1	B1	0.86	17.8	93.73	23	7	17	6
1	P2	B1	0.91	20.2	95.43	23	5	15	8
1	P3	B1	0.89	20.9	144.35	24	4	23	1
2	P1	B1	0.93	17.4	88.51	18	2	9	9
2	P2	B1	1.00	21.4	108.11	36	4	17	19
2	P3	B1	0.96	21.7	135.80	35	6	23	12
3	P1	B1	0.96	20.5	92.76	41	3	37	4
3	P2	B1	0.98	19.2	102.31	51	5	49	2
3	P3	B1	0.89	21.9	148.76	51	1	46	5
1	P1	B2	0.96	19.4	92.96	20	3	19	1
1	P2	B2	0.99	20.8	112.71	31	3	22	9
1	P3	B2	0.90	17.8	136.01	25	4	19	6
2	P1	B2	0.97	15.4	90.40	24	2	15	9
2	P2	B2	1.00	18.6	93.87	22	2	13	9
2	P3	B2	0.87	22.1	134.32	40	8	28	12
3	P1	B2	0.98	23.3	99.41	56	3	53	3
3	P2	B2	1.00	17.6	113.02	42	4	39	3
3	P3	B2	0.98	24.4	135.18	46	1	41	5
1	P1	B3	0.96	19.9	93.90	13	1	9	4
1	P2	B3	1.00	19.3	109.86	29	3	21	8
1	P3	B3	0.91	16.4	139.57	30	9	24	6
2	P1	B3	0.94	15.7	83.65	34	2	13	21
2	P2	B3	0.99	17.6	110.51	30	2	20	10
2	P3	B3	0.88	19.6	147.41	21	5	15	6
3	P1	B3	0.94	16.0	105.17	50	4	47	3
3	P2	B3	0.97	20.1	114.67	50	1	43	7
3	P3	B3	0.82	22.9	164.06	42		37	5
1	P1	B4	0.96	16.6	99.70	24	5	19	5
1	P2	B4	0.93	21.7	98.56	33	7	24	9
1	P3	B4	0.91	18.0	146.90	20	3	14	6
2	P1	B4	0.97	17.9	82.85	24	3	18	6
2	P2	B4	0.99	16.2	117.26	37	7	29	8
2	P3	B4	0.90	20.8	139.20	41	9	32	9
3	P1	B4	0.93	20.2	106.55	49	1	44	5
3	P2	B4	0.94	17.5	102.46	50		40	10
3	P3	B4	0.98	23.7	127.21	43		42	1
1	P1	B5	0.94	15.5	96.32	20	4	16	4
1	P2	B5	0.95	20.1	106.88	29	4	17	12
1	P3	B5	0.86	18.6	125.47	42	13	25	17
2	P1	B5	0.99	15.5	99.03	28	6	19	9
2	P2	B5	1.00	20.1	106.05	20	5	11	9
2	P3	B5	0.93	20.8	137.48	30	5	18	12
3	P1	B5	0.94	19.1	92.25	46	1	42	4
3	P2	B5	0.94	15.9	110.46	56	1	48	8
3	P3	B5	0.92	23.1	135.64	43	1	41	2
1	P1	B6	0.96	19.7	95.09	14	4	10	4
1	P2	B6	0.94	20.2	121.36	11	5	9	2
1	P3	B6	0.87	18.2	162.93	21	2	17	4
2	P1	B6	0.94	16.0	80.82	16	1	8	8
2	P2	B6	0.94	16.6	103.52	35	7	19	16
2	P3	B6	0.95	21.8	148.69	30	4	11	19
3	P1	B6	0.93	18.3	92.63	58	4	52	6
3	P2	B6	0.96	19.2	124.89	58	1	54	4
3	P3	B6	0.90	20.8	141.03	44	2	38	6
1	P1	B7	0.93	15.8	87.58	24	5	20	4
1	P2	B7	0.93	18.7	104.37	17	1	12	5
1	P3	B7	0.92	19.7	136.43	19	2	16	3
2	P1	B7	0.87	16.5	87.71	25	2	14	11
2	P2	B7	0.98	19.0	98.53	24	6	13	11
2	P3	B7	0.96	20.0	152.47	37	5	17	20
3	P1	B7	0.92	18.9	92.86	41	1	33	8
3	P2	B7	0.97	16.2	100.40	51		46	5
3	P3	B7	0.93	19.3	129.19	63	1	55	8