

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



**Técnicas de Estudios Temporales de Raíces y Elaboración de una Escala
para Medir Densidad de Raíz.**

Por:

JOSÉ GUADALUPE CAMPOS MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Técnicas de Estudios Temporales de Raíces y Elaboración de una Escala para
Medir Densidad de Raíz.

Por:

JOSÉ GUADALUPE CAMPOS MARTÍNEZ

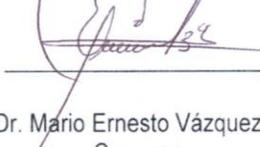
Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada


Dr. Humberto de León Castillo
Asesor Principal


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Coasesor


Dr. Carlos Cecilio Góngora Canul
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México. Junio 2012.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Humberto de León Castillo por haberme brindado su amistad, sus conocimientos, además de los consejos que en algunas ocasiones me dio y me ayudaron mucho, por el tiempo dedicado y siempre estuvo incondicional para resolver mis dudas en esta investigación. ¡Muchas gracias!

Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo por el tiempo dedicado para pulir esta tesis.

Al Dr. Armando Rodríguez García quien me apoyo en las revisiones y me dio buenos consejos que me ayudaron bastante.

Al Dr. Carlos C. Góngora Cannul por darme la oportunidad de desarrollar esta investigación en la empresa Pioneer durante mi estancia profesional y por confiar en mí para sacar adelante este proyecto además de apoyarme en las revisiones, brindarme su amistad y consejos.

Al Ing. Rodrigo Hdez y al Ing. Jorge Amacende quienes contribuyeron realizando parte del trabajo de este proyecto y que con su ayuda logramos sacar adelante esta investigación. Por su amistad y momentos felices que pasamos juntos en Tlajomulco de Zuñiga.

Al M.C. Francisco Alfonso Gordillo Melgoza quien me ayudo a resolver algunas dudas y por su amistad.

A todos los maestros que compartieron sus conocimientos en cada una de las materias llevadas en los diferentes semestres y que me prepararon para ser un profesionista.

A mi "ALMA TERRA MATER" por abrirme sus puertas y ser mi segunda casa además de darme las herramientas necesarias de estudio para terminar mi carrera de una manera satisfactoria.

Se le agradece al "Cuñao" (Pablo Agabo), al chino (Rubén) por su amistad y apoyo, Al Ángelo y al cholo por aquellos momentos en los que nos divertimos a lo grande.

A mi compa el espíritu, Fidencio, la llanta, Efrén y al joven por su amistad brindada y consejos.

A mi amigo José Francisco Valdez Lara  con quien compartí buenos momentos. Dios te tenga en la gloria.

Agradezco a mis compas y paisanos del dormitorio "La Colorada", a la "Mara", luz, "ponk", el pako, "Trini", a mis jóvenes el "Toto", la "rata" por todos aquellos momentos de felicidad que pasamos juntos y no me dejaron solo.

A todos aquellos que no mencione, gracias por su amistad y nunca olvidare todos estos momentos vividos en nuestra querida "NARRO".

A todos aquellos que alguna vez pensaron que no terminaría mis estudios.

También a todas aquellas personas queridas que si creyeron que seria un profesionalista.

DEDICATORIAS

A Dios por darme la oportunidad de vivir y de regalarme una maravillosa familia.

A mis padres

Sr. Mario Campos Carrillo

Sra. Ma. De los Ángeles Martínez Cano

Por darme la vida y cuidar de mí en todo momento. Gracias papá por todo, por creer siempre en mí, por enseñarme todos tus valores como el respeto y por tus sabios consejos, aunque pasamos momentos difíciles nunca perdiste la fe y siempre me apoyaste, por todo esto y mas le agradezco y le dedico este logro con todo mi corazón.

A mis hermanos

Con gran respeto, admiración y mucho cariño, Marina, Cecilia, Emilio gracias por sus motivaciones que me ayudaron mucho y por estar siempre conmigo, siempre están presentes en mi mente.

A Victoria Alvarez Alvarez

No tengo las palabras exactas para decirte cuanto te agradezco por estar a mi lado todo este tiempo de nuestra carrera, eres una gran persona que vale mucho más de lo que pesas en oro, gracias por darme tu amor y tu apoyo incondicionalmente cada vez que lo necesite.

Gracias por estar conmigo en momentos tan difíciles y muchos momentos felices, por creer en mí a pesar de como me comporte gran parte de este tiempo.

Le agradezco a dios por haberte puesto en mi camino que gracias a eso pude llegar al final de este logro y el principio de muchos más que espero compartir contigo.

Que la vida te sonría siempre y tengas mucho éxito en todo lo que te propongas, cuida de nuestra hija. Siempre estaré a su lado.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	2
Hipótesis	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Métodos de estudio de raíces	3
Rhizotrones	4
Tipos de escalas	5
Acame	6
Sistema radicular	7
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Lugar del área de estudio	9
Material genético	9
Labores de cultivo	11
Rhizotrones	11
Toma y procesamiento de fotos	14

Diseño experimental	18
Escala diagramática de raíces	19
Validación de la escala	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
Análisis de varianza	21
Diferencia entre fechas de evaluación	21
Comparación de medias en fecha y material genético	23
Comparación de materiales genéticos por fechas	24
Comparación de medias de materiales genéticos	25
Método novedoso de estimación de densidad raíces	37
Propuesta de la escala diagramática de densidad de raíces	39
Validación de la escala diagramática de densidad de raíces	42
CONCLUSIONES	44
LITERATURA CITADA	45
APÉNDICE	48

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
3.1	Materiales genéticos utilizados en los dos estudios bajo condiciones de invernadero utilizando rhizotrones	10
4.1	Análisis general realizado en el primer experimento para las líneas parentales y sus híbridos para la variable densidad de raíz a través de 8 fechas de evaluación	21
4.2	Análisis general del segundo experimento realizado para cuatro cruza simples y sus parentales en 7 fechas de evaluación para la variable de densidad de raíz	22
4.3	Agrupamiento de las fechas de evaluación por medias de densidad de raíz mediante la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ en los dos experimentos	23
4.4	Análisis general por fechas del primer y segundo experimento en base a la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$	25
4.5	Agrupamiento de genotipos utilizados en los dos experimentos con base a los valores estimados de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ (DMS) para densidad de raíz	26
4.6	Análisis individual entre líneas parentales para densidad de raíz en el primer experimento	27
4.7	Análisis individual entre líneas parentales para densidad de raíz del segundo experimento	28
4.8	Agrupamiento para líneas de los dos experimentos considerando la densidad de raíces en las diferentes fechas de evaluación en base a la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ (DMS)	29

4.9	Agrupamiento de medias entre líneas parentales para densidad de raíz en los experimentos utilizando las pruebas de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)*2$ (DMS)	30
4.10	Análisis de varianza para híbridos del primer experimento con la variable de densidad de raíz	33
4.11	Análisis de varianza para híbridos del segundo experimento con la variable de densidad de raíz	33
4.12	Agrupamiento de medias de densidad entre fechas de evaluación para híbridos en los dos experimentos	34
4.13	Agrupamiento de medias entre híbridos para la variable densidad de raíz en el primer experimento	35
4.14	Escala recomendada para medir densidad de raíz en líneas parentales e híbridos a través del tiempo	40
4.15	Análisis de regresión lineal con base en los datos encuestados de diez evaluadores con ayuda de una escala.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
3.1	Dimensiones del rhizotron y foto real del rhizotron mostrando soportes de madera	12
3.2	Fotografía digital de una raíz de maíz dentro del rhizotron antes de iniciar el procesamiento digital	16
3.3	a) fotografía digital original en el programa ImageTool delimitando el área que no corresponde al suelo, y b) conversión de la fotografía a escala de grises	16
3.4	Aplicación del umbral manual para definir el área con pixeles blanco/negro	17
3.5	Análisis de la foto para la obtención del número de pixeles blancos y negros	17
4.1	Comportamiento de líneas parentales a través del tiempo en el primer experimento	31
4.2	Comportamiento de líneas parentales a través del tiempo en el segundo experimento	32
4.3	Comportamiento de híbridos a través del tiempo en el primer experimento	36
4.4	Comportamiento de híbridos a través del tiempo en el segundo experimento	37
4.5	Escala diagramática para medir densidad de raíz con las clases (1-6) y puntos medios de la clase.	41

RESUMEN

Se condujeron dos experimentos de maíz (*Zea mays L.*) sembrados en rhizotrones en condiciones de invernadero para implementar un método de medición densidad de raíz con el propósito de elaborar una escala de raíces, además de relacionar algunas características con el acame. Se evaluaron cuatro híbridos y sus siete líneas parentales y cuatro cruza simples con sus siete progenitores. Todos los progenitores macho tienen la característica de ser deficientes en biomasa de raíz y todas las hembras son superiores. Los objetivos de este estudio fueron a) realizar una propuesta para la estimación de la densidad de raíces de maíz usando técnicas de rhizotron y fotometría, b) creación de una escala visual de densidad de raíces. El método utilizado para medir densidad de raíz fue con el programa ImageTool que consistió en analizar las fotos tomadas a la raíz en los rhizotrones. El diseño experimental fue bloques completamente aleatorizado. El método propuesto resultó efectivo permitiendo realizar una escala cuantitativa con los datos obtenidos en estos análisis. La escala de densidad de raíz se realizó juntando los datos en fecha y material genético, los cuales se transformaron a raíz cuadrada para obtener parámetros de distribución normal, a partir de estos se generaron intervalos de clase los que permitieron construir la escala propuesta.

Palabras clave: acame, densidad de raíz, escala, rhizotrones,

INTRODUCCIÓN

La forma moderna de explotación comercial del maíz se basa principalmente en la utilización de híbridos simples cultivados a altas densidades de siembra con la expectativa de explotar al máximo la heterosis en rendimiento y hacer sinergia con mayor número de mazorcas por superficie. Sin embargo, un problema que enfrentan los genetistas es la incidencia al acame ocasionado por la competencia.

El modelo de desarrollo de las raíces se ha asociado con la incidencia de acame, sin embargo, el estudio cuantitativo de las raíces ha sido sin lugar a duda muy laborioso, demandante de tiempo y muchas veces caro. Los estudios para determinar densidad de raíces se han basado principalmente en estudios destructivos con un sólo o varios puntos en el tiempo. Las recientes técnicas para el estudio de las raíces en el suelo incluyen rhizotrones, cilindros transparentes con fibras ópticas de iluminación e incluso grabaciones con video (Upchurch, D. R. and Ritchie, J. T. 1983).

Ya que en el cultivo del maíz no existe un método efectivo para realizar estudios repetidos no destructivos de la misma unidad experimental que permita estimar la densidad de raíces a través del tiempo y obtener una escala que

pueda ser utilizada en otros estudios relacionados a la dinámica del crecimiento del sistema radicular y su relación con otros factores del ambiente o de la misma planta.

La presente investigación tuvo como objetivos: innovar un método de estudio de la dinámica temporal del crecimiento de densidad de raíz de maíz basado en observaciones en rhizotrones y fotometría además de realizar una escala de densidad de raíces en el tiempo.

Objetivos

- Realizar una propuesta para la estimación de la densidad de raíces de maíz usando técnicas de rhizotron y fotometría.
- Creación de una escala visual (con datos cuantitativos) de densidad de raíces.

Hipótesis

- Es posible determinar la densidad de raíces con métodos como el uso del rhizotron y fotometría.
- La escala diagramática para estimar la densidad de raíces sería una escala de una aplicación práctica.

REVISIÓN DE LITERATURA

Métodos de estudio de raíces

La medición de alguna variable relacionada al estudio de las plantas es requisito indispensable para el entendimiento o estudio de algún fenómeno biológico en cuestión. El estudio relacionado a las raíces de las plantas específicamente a la dinámica del desarrollo de las raíces de maíz ha sido estudiado con diferentes métodos y para diferentes propósitos en la investigación (Ken 1998). Los métodos frecuentemente usados para el estudio de las raíces son fundamentalmente de 3 tipos: 1) métodos destructivos de lavado (Welbank and Williams, 1968; Keng *et al.*, 1979) ii) métodos indirectos de inyección de radioisótopos (Hall *et al.*, 1953) iii) y los métodos no destructivos basados en la observación directa a través de un panel transparente como los rhizotrones o mini-rhizotrones (Roger, 1969; Taylor *et al.*, 1970; Waddington, 1971); Gregory, 1979; Sanders and Brown, 1978). Así solo los métodos no destructivos ofrecen la oportunidad de hacer mediciones repetidas sobre la misma unidad experimental.

Los métodos visuales y mecánicos han sido ampliamente usados en maíz para la selección de plantas resistentes al acame por ejemplo (Sarasola *et al.*, 1970; Thompson, 1982) e incluso se ha determinado que el sistema radicular es diferente en los genotipos de maíz en lo que lo hace a su hábito, a su masa de raíces, al número de ramificaciones por unidad de longitud y a la difusión lateral

de las raíces (Feldman, 1994). Sin embargo, la eficiencia de estos métodos y los procesos de selección son afectados por las condiciones ambientales.

Rhizotrones

Desde 1873, se han utilizado cajas llenas de tierra, con una ventana de vidrio para la observación del crecimiento radical (Merril, 1992). Actualmente existen diversos tipos de rhizotrones, uno de ellos consistente de una gran estructura subterránea construida para estudiar el desarrollo de raíces y sus movimientos, en árboles frutales; la cual ha sido mencionada desde hace varios años. Su construcción fue a base de paneles de vidrio verticales, para determinar el crecimiento y proliferación de raíces, y fauna del suelo (Mc.Crimmon, Karnok, 1992).

Las técnicas de construcción de rhizotrones, su funcionamiento y los tipos de experimentos que se han realizado en ellos han sido revisados por Huck y Taylor (1982) y Taylor y Willatt (1981).

Huck y Taylor (1982) sugiere que los rhizotrones permiten sólo observaciones anatómicas y la medición de la raíz de tasas de extensión, pero la medición no es exacta del volumen de suelo, longitud de la raíz y la densidad. Los rhizotrones tienen varias ventajas sobre la mayoría de otros métodos de estudio de raíces, se pueden realizar varias mediciones y son fáciles de hacer dentro del mismo rhizotron, ya que se puede observar fácilmente varias partes de la raíz. Se puede estimar la velocidad de crecimiento de la raíz. La

desventaja de los rhizotrones es que se requiere de una alta inversión de inicio para su construcción, una vez formados se pueden compartir con un gran número de científicos cada uno trabajando dentro de su tema específico.

Tipos de Escalas

Una de las dificultades aunadas al estudio de raíces además de las observaciones *per se*, incluyen aquellas para determinar una estimación de la densidad de la masa radicular. Una buena opción para estimar esta variable es con la elaboración de una escala como mencionan los autores Bordens y Abbott, 1996. Cuatro tipos básicos de escalas que figuran en el orden de por lo menos a la más cuantitativa información proporcionada son: nominal, ordinal, intervalo, y la relación de las escalas (De Vellis, 1991). Aquellos valores que difieren por categoría se dice que caen a lo largo de una escala nominal y estos valores tienen diferentes nombres de categoría.

Los valores de una variable ordinal no solo tienen nombres diferentes también pueden ser clasificados de acuerdo en cierta medida descriptiva de la cantidad. Esta escala se aplica habitualmente por los fitomejoradores para marcar genotipos de plantas resistentes a enfermedades (Muy resistente, moderadamente resistente, moderadamente susceptibles, muy susceptibles), (De Vellis, 1991; Bordens y Abbott, 1996). La escala de intervalo la posición del cero se establece en base a la conveniencia (una escala 1-9 para evaluar la resistencia a enfermedades, donde 1 = sin enfermedad y la enfermedad 9 = máximo).

Horsfall y Barratt (1945) han argumentado que los evaluadores no pueden discriminar con precisión la enfermedad de niveles de gravedad entre 25% y 50%, ya que la agudeza visual en el ojo humano es proporcional al logaritmo del estímulo.

Acame

Según Jugenheimer (1981) el término acame en plantas lo define como la caída o inclinación de la planta en un ángulo de 45° o menos respecto al suelo, de igual manera Poehlman y Sleper, (1985) mencionan que el acame de raíces ocurre cuando el tallo cae más de treinta grados desde su posición vertical y el acame de tallo ocurre cuando el tallo es quebrado debajo de la mazorca con un ángulo de 45 °C.

Carter (1985) menciona que el acame en el cultivo de maíz sucede en distintas etapas del desarrollo debido a la existencia de distintos factores que lo inducen, entre ellos las variables del clima, suelos húmedos y susceptibilidad de la variedad. Otros autores mencionan que el acame tiende a asociarse con factores ambientales como lluvias intensas con viento, o con factores de manejo como la alta densidad o la mala distribución de plantas (H.R. Lafitte. 1993), lo cual durante el periodo de llenado de grano reduce el rendimiento del grano por restringir principalmente la translocación de fotosintatos al grano y por dificultar la cosecha mecánica (Wiersma *et al.*, 1986).

Sistema radicular

El cultivo cuentan con raíces seminales, estas se desarrollan a partir de la radícula de la semilla, disminuyen su crecimiento después que la plúmula emerge por encima de la superficie del suelo y detienen completamente su crecimiento en la etapa de tres hojas (V_3) de la plántula, pero pueden estar activas durante toda la vida de la planta. Las raíces adventicias inician su desarrollo a partir del primer nudo en el extremo del mesocotilo, mientras que las raíces adventicias se desarrollan a partir de cada nudo sucesivo hasta llegar de siete a diez nudos, todos ellos por debajo de la superficie del suelo. Estas raíces se desarrollan en espesa red de raíces fibrosas.

Feldman (1994) menciona que el sistema de raíces adventicias tiene la función de mantener la planta erecta y evitar su vuelco en condiciones normales, se cree ahora que también colaboran en la absorción de agua y nutrimentos, por su parte Mistrik y Mistrikova (1995) señalan que el sistema de raíces adventicias seminales constituye cerca del 52 por ciento y que el sistema de nudos de las raíces es del 48 por ciento de la masa total de raíces de la planta de maíz. Algunas raíces adventicias se desarrollan a dos o tres nudos por encima de la superficie del suelo, en otros genotipos de maíz se desarrollan en un número mayor de nudos.

Hebert *et al.* (1992) menciona que las características de altura de planta y mazorca, peso seco de raíces y parte aérea de la planta, diámetro del tallo y raíces, y ángulo del crecimiento de raíces han sido relacionadas al acame, de igual manera Sarasola *et al.* (1970) han encontrando correlaciones positivas y significativas entre diámetro del tallo medido en la base, volumen de la parte aérea de la planta, volumen de las raíces y la resistencia al acame. Este mismo autor encontró que la altura de planta no estuvo correlacionada con volumen de la parte aérea y volumen de raíces.

MATERIALES Y METODOS

Lugar del Área de Estudio

Los experimentos se realizaron en condiciones de invernadero de la estación experimental de Pioneer Hi-Breeding International en la localidad de Tlajomulco de Zuñiga en el estado de Jalisco, durante el periodo de Julio – Diciembre del 2011 y de noviembre del 2011 a Abril del 2012. El fotoperiodo utilizado fue de 12 h luz y 12 h de oscuridad a una temperatura aproximada de 28 °C.

Material Genético

El material genético utilizado en la presente investigación estuvo conformado por cuatro híbridos usados en México y siete líneas en el primer experimento y por cuatro cruzas simples y siete líneas en el segundo experimento propiedad de Pioneer Hi-Breeding International. El Cuadro 3.1 se proporciona una mínima descripción de las características de los materiales.

Cuadro 3.1. Materiales genéticos utilizados en los dos estudios bajo condiciones de invernadero utilizando rizotrones.

Experimento	Híbrido	Parental	Criterio de Acame
1	Híbrido 1A	H1A	Bueno
		M1A	Malo
	Híbrido 1B	H1B	Bueno
		M1B	Malo
	Híbrido 1C	H1C	Bueno
		M1C	Malo
	Híbrido 1D	H1D	Bueno
		M1D	Malo
2	Híbrido 2A	H2A	Bueno
		M2A	Malo
	Híbrido 2B	H2B	Bueno
		M2B	Malo
	Híbrido 2C	H2C	Bueno
		M2C	Malo
	Híbrido 2D	H2D	Bueno
		M2D	Malo

¹ H=Parental hembra y M=Parental macho

Labores Culturales

Siembra. Las semillas de los genotipos se sembraron en rhizotrones para permitir una observación visual y continua de las características estructurales y morfológicas de la raíz. Consistió en depositar dos semillas separadas a 1 cm entre ellas al centro del rhizotron a una profundidad de 2.5 cm, y cerca del lado del acrílico para posteriores observaciones visuales. Los rhizotrones se asentaron en un ángulo de inclinación aproximado de 20-30° para permitir el crecimiento de la raíz pegado a lo largo del acrílico por efecto gravitacional. A los tres días después de la siembra, el perfil del acrílico se cubrió con papel aluminio domestico para evitar fotosíntesis de la raíz durante el tiempo de duración del experimento. Una vez germinadas las semillas se realizó un aclareo dejando una sola planta por rhizotron para las observaciones que se realizaran en la raíz.

Rhizotrones

Los rhizotrones consistieron en cajas de madera con un lado de acrílico transparente para la observación visual de las raíces, con dimensiones de 1.20 m de altura, 60 cm de ancho y 10 cm de largo. (Fig. 3.1). Se le colocaron tres soportes de madera para evitar que el peso de la mezcla de suelo doblegara el acrílico. A cada rhizotron se le hicieron cuatro agujeros para la filtración del agua al momento del riego. La capacidad que contiene cada rhizotron es de aproximadamente 70 kg de mezcla de suelo.

Antes de llenarse los rhizotrones con la mezcla de suelo, se les dio de tres a cuatro aplicaciones de sellador para madera (river) para evitar el deterioro de las cajas por efecto de la humedad del suelo y las aplicaciones de riegos durante el periodo del experimento. Durante el desarrollo del experimento se remplazaba el aluminio periódicamente para evitar roturas y evitar la entrada de luz a la raíz, esto dañaría la calidad de la imagen. Los rhizotrones se recargaron en un material de fierro (PTR) de 6 m de largo horizontalmente ocupando un total de cuatro PTR's para cubrir el ancho de las 36 cajas, dejando un pequeño espacio entre rhizotrones para facilitar el manejo para las observaciones futuras de la raíz.

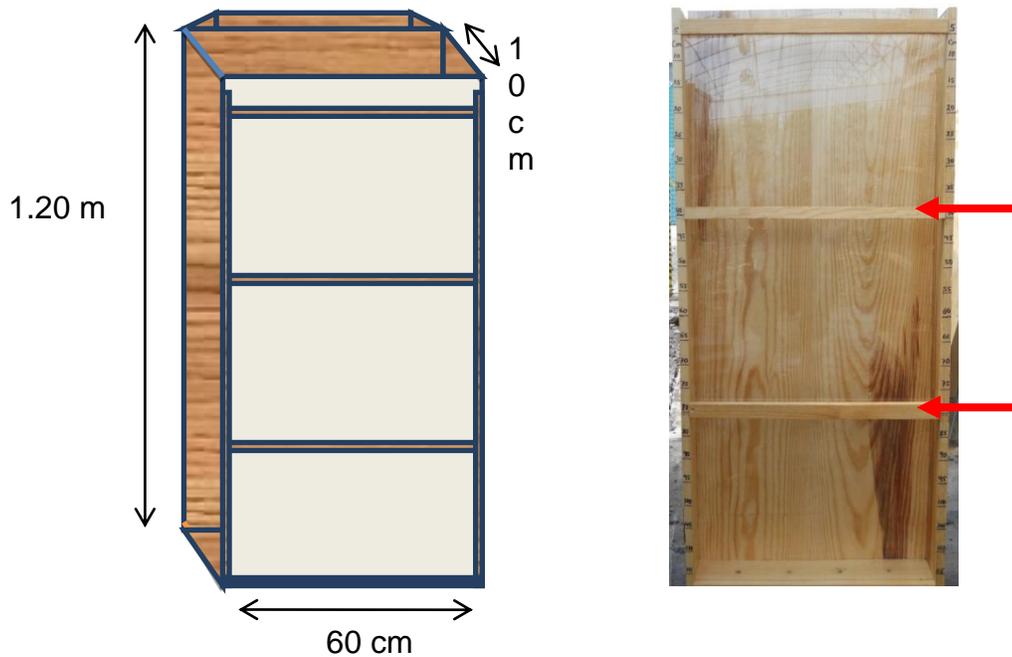


Figura 3.1. Dimensiones del rhizotron y foto real del rhizotron mostrando soportes de madera.

Mezcla de Suelo

La mezcla del suelo utilizada como sustrato dentro de los rhizotrones consistió en revolver tierra de campo (migajón-arcilloso) y arena en una proporción de 50:50 por ciento de tierra-arena. [vol:vol] no esterilizada. La mezcla de suelo se humedeció a un porcentaje aproximado de 19.5 % vertiendo agua a la mezcla antes de llenar los rhizotrones para asegurar una distribución vertical homogénea a lo largo del perfil del rhizotron.

Fertilización

Para la fertilización se utilizó una mezcla con la fórmula 11-10-31 (N, P, K) en las etapas fenológicas V_4 y V_8 aproximadamente, con una cantidad de 40 gramos por cada rhizotron disolviéndolo en 1 un litro de agua, por tiempo de aplicación. Aunado a ello se realizó una fertilización foliar con Speedfol con una dosis de 12.5 gramos aproximadamente por litro de agua.

Riegos

Se aplicaron dependiendo de los requerimientos de las plantas dado su desarrollo, el primer riego de auxilio se dio a los nueve días después de sembrado, con una cantidad de un litro por cada rhizotron. Los siguientes riegos se dieron con una cantidad de cuatro litros de agua para obtener una mejor dispersión a lo largo del perfil del rhizotron, posteriormente se cambió la

cantidad de agua a seis litros dado el desarrollo de la raíz y estado de la planta (V₈). Los siguientes riegos se dieron conforme lo requería la planta aumentando la cantidad de agua que fue de siete a ocho litros de agua por caja, obteniendo una mejor dispersión del agua a lo ancho y largo del rhizotron.

Control de Plagas

Se realizaron aplicaciones de insecticidas sistémicos y de contacto (Engeo, Palgus) para el control de larvas de lepidópteros como el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), gusano trozador (*Agriotis* sp) conforme el cultivo lo necesito en las diferentes etapas de desarrollo. Por otro lado se realizaron aplicaciones de acaricida (Omite) para el control de araña roja (*Tetranychus* sp.).

Toma de Datos y Procesamiento de Fotos

Estimación de la densidad de la raíz. Se tomaron fotos a las raíces para su procesamiento, en el primer experimento se tomaron ocho sesiones de fotografías digitales a los 36, 43, 49, 57, 63, 79, 92 y 106 días después de la siembra (DDS) y en el segundo experimento se tomaron siete sesiones de fotos digitales a los 14, 25, 46, 68, 87, 104 y 131 DDS. Al momento de la toma de fotos los soportes de madera del lado del acrílico se retiran y se hace una ligera limpieza al acrílico para una mejor captación de una imagen completa (Fig. 3.2).

Al momento de tomar las fotos se colocó una sombra detrás de la cámara para evitar el reflejo del flash en la pared del acrílico y facilitar el procesamiento digital. El procesamiento digital consistió en procesar cada imagen de la raíz utilizando el programa ImageTool Ver. 3.0 (The University of Texas Health Science Center at San Antonio, 2002).

Se delimitó la foto sólo considerando el área que corresponde al rhizotron y la raíz, se calculó el área que corresponde sólo al rhizotron y raíz, se convirtió tal área a escala de grises, se utilizó la opción umbral para definir los colores blancos y negros, esta operación se realizó tres veces en cada foto, una vez definido los pixeles, negro para el suelo y blanco para la raíz, se utilizó la opción de análisis para el conteo de pixeles blancos y negros para la obtención del porcentaje o área que ocupa la raíz en el rhizotron (Figs 3.3-3.5).



Figura. 3.2 Fotografía digital de una raíz de maíz dentro del rhizotron antes de iniciar el procesamiento digital

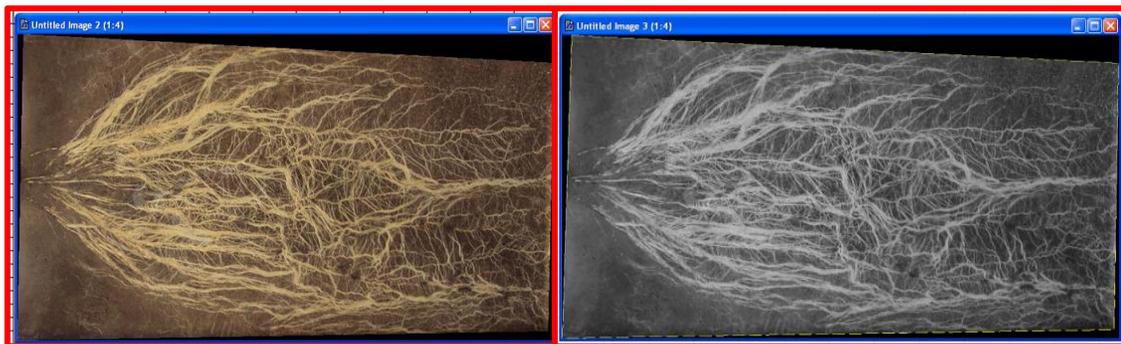


Figura 3.3 a) fotografía digital original en el programa ImageTool delimitando el área que no corresponde al suelo, y b) conversión de la fotografía a escala de grises

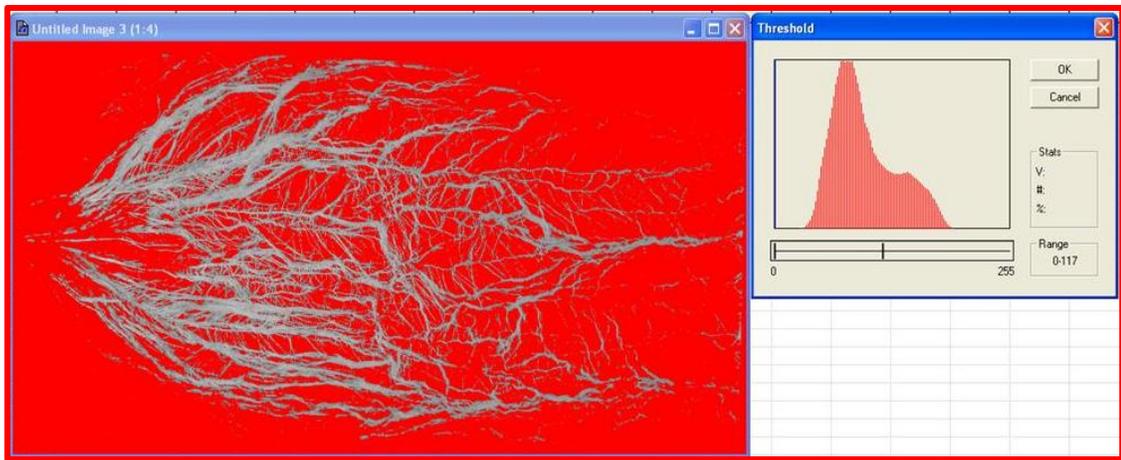


Figura 3.4 Aplicación del umbral manual para definir el área con pixeles blanco/negro



Figura 3.5 Análisis de la foto para la obtención del número de pixeles blancos y negros

Diseño Experimental

En el primer experimento se utilizó tres repeticiones y en el segundo experimento dos repeticiones por cada material genético, distribuidos en tres bloques completamente aleatorizados, obteniendo un total de 36 unidades experimentales (cajas) en el experimento uno y 24 cajas para el experimento dos. Los bloques fueron las repeticiones y los tratamientos (genotipos) se distribuyeron aleatoriamente dentro de cada bloque.

Los datos obtenidos de las mediciones se analizaron utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS versión 9 para detectar diferencias entre genotipos y tiempos de evaluación de las raíces, por cada experimento y en conjunto. Una vez realizados el análisis general e individual para los materiales genéticos (líneas e híbridos) se sacrificó una repetición del primer experimento para poder realizar el agrupamiento de medias con la prueba de Tukey.

En el análisis por fechas se utilizaron las tres repeticiones con los once materiales genéticos del experimento uno y las cuatro cruza simples con sus parentales del segundo experimento utilizados en esta investigación. Se realizó una comparación de medias de las características con la prueba de Tukey ($P=0.05$).

Escala diagramática de raíces

Para determinar que existe diferencia de la densidad de raíz entre materiales genéticos y fecha de evaluación, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de cada experimento por separado y en conjunto como se mencionó anteriormente en el análisis de datos. Además se realizó una comparación de medias para el material genético y fechas de evaluación utilizando la prueba de Tukey ($P=0.05$).

Para la realización de la escala diagramática, los datos de densidad de raíces de los dos experimentos se juntaron en fecha y material genético haciendo un total de 397 datos. Los datos de densidad de raíces de cada material y fecha se transformo a la raíz cuadrada para determinar parámetros de la distribución normal. Se definieron seis clases con las 397 fotos procesadas, los intervalos de clase, frecuencias y porcentajes se muestran en el cuadro 4.16. Las imágenes utilizadas para proponer la escala diagramática visual se seleccionaron con base al valor medio del intervalo de clase del valor real de densidad sin importar si el material genético fue línea o híbrido esta metodología es parecida a la mencionada por Mora-Aguilera *et al.*, 2003; Tovar-Soto *et al.*, 2002.

Validación de la escala

La validación de la escala diagramática consistió en seleccionar 10 estudiantes de agronomía de octavo y noveno semestre y algunos egresados de manera aleatoria para que elaboraran una evaluación propia de las imágenes.

Para propósitos de calibración a los evaluadores, antes de iniciar la evaluación de las imágenes, se les presentó la escala diagramática propuesta con sus respectivos intervalos de clase.

Fueron 18 imágenes por evaluador ya que se tomaron tres representativas de cada una de los seis intervalos de clase propuestos.

Por último se realizaron regresiones lineales entre las densidades estimadas por los evaluadores (variable X) y valores reales de la escala propuesta en el presente trabajo (variable Y); generándose el coeficiente de determinación (R^2), el intercepto (b_0), pendiente (b_1) y el nivel de la significancia estadística de la regresión, como criterios para determinar la viabilidad y practicidad de la escala propuesta (Mora-Aguilera *et al.*, 2003; Tovar-Soto *et al.*, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

Diferencia entre fechas de evaluación

Para dar cumplimiento a los objetivos y comprobar la hipótesis planteada, en este capítulo se presentan primeramente los resultados obtenidos en el análisis de densidad de raíz. Los Cuadros 4.1 y 4.2 muestran los resultados de diferencia significativa para densidad de raíz en los dos experimentos a una $P \leq 0.01$ en las fuentes de variación fechas y tratamientos, esto indica que a través del tiempo el aumento de raíz es diferente en al menos una fecha y por otro lado que al menos uno de los genotipos utilizados es diferente al resto en su potencial para densidad de raíz.

Cuadro 4.1 Análisis general realizado en el primer experimento para las líneas parentales y sus híbridos para la variable densidad de raíz a través de 8 fechas de evaluación.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	
Fechas	7	4901.90449	700.27207	**
rep(fecha)	8	68.469295	8.558662	
Tratamientos	10	1085.99529	108.599529	**
fecha*trat	70	679.564266	9.708061	
EE	80	763.851155	9.548139	
Media			12.38108	
CV			24.95749	

EE, error experimental, CV, coeficiente de variación, * Significativo al $P \leq 0.05$ y ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

Cuadro 4.2 Análisis general del segundo experimento realizado para cuatro cruza simples y sus parentales en 7 fechas de evaluación para la variable de densidad de raíz.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	
Fechas	6	3063.84909	510.641515	**
rep(fec)	7	67.197219	9.599603	*
Tratamientos	10	961.74728	96.174728	**
fec*trat	59	1198.06699	20.30622	**
EE	60	222.400481	3.706675	
media			5.457343	
CV			35.27857	

EE, error experimental, CV, coeficiente de variación, * Significativo al $P \leq 0.05$ y ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

En el Cuadro 4.3 se muestran los resultados de las pruebas de rango múltiple según Tukey, donde en el primer experimento, la fecha siete y seis son las de mejor comportamiento en cuanto a densidad de raíz. La fecha ocho que se supone es la que debería ser la de mayor densidad se quedo en el segundo grupo y es estadísticamente igual a la fecha cinco esto se puede deber a que el rhizotron no permitió mayor crecimiento de raíz; además en esta fecha la mayoría de los genotipos probablemente tuvieron problemas con “hongos” pues se observaron manchones negros en las raíces, lo cual no permitió una calidad de foto y al momento de analizarla en el programa ImageTool no detectó la parte negra, causa por la cual hubo disminución de densidad de raíz.

Las primeras cuatro fechas de evaluación mostraron ser estadísticamente diferentes, estos agrupamientos como los dos anteriores indican que hay suficiente diversidad entre la densidad de raíz, siendo esto de gran interés para la investigación pues permitirá el genetista elegir la fecha más adecuada para

hacer selección. Los resultados del segundo experimento, muestran que las primeras tres fechas son estadísticamente iguales; las fechas cuatro y cinco se comportaron de forma diferente, la cinco y seis son iguales y diferentes a la siete, que es la de mejor valor en cuanto a densidad, coincidiendo esto último con los resultados del primer experimento.

En el segundo experimento el agrupamiento de medias de densidad fue en base a la formula $(\sqrt{cme}/2)^*2$ (DMS).

Comparación de medias en fecha y material genético

Cuadro 4.3 Agrupamiento de las fechas de evaluación por medias de densidad de raíz mediante la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ en los dos experimentos.

Experimentos					
1			2		
Tukey Agrupamiento	Media	Fechas	$(\sqrt{cme}/2)^*2$ Agrupamiento	Medias	Fechas
A	19.1564	7	A	14.306	7
A	17.9395	6	B	11.3315909	6
B	15.3905	8	B	7.6413636	5
B	14.8414	5	C	4.8339394	4
C	12.4073	4	D	1.0874545	3
D	9.9718	3	D	0.4118182	2
E	6.4323	2	D	0.2790909	1
F	2.9095	1			

Comparación de materiales genéticos por fechas

Una vez que se rechazó la hipótesis de que la densidad de raíz es similar en todas las fechas y con la finalidad de conocer cual o cuales fechas son las más recomendadas para hacer selección con atención a la variable densidad, se realizó un análisis por fecha utilizando las tres repeticiones y los once materiales genéticos, líneas parentales e híbridos en el primer experimento, y cuatro cruza simples y sus líneas parentales en el segundo experimento, en el Cuadro 4.4 se presenta los niveles de significancia y el número de grupos estadísticos formados por los genotipos dentro de cada fecha.

De los resultados del primer experimento se encontró que la fecha uno no detectó diferencias estadísticas entre genotipos. También las fechas tres y cuatro indican que en todos estos casos que los valores estimados en densidad de raíz entre tratamientos no fueron lo suficientemente diferentes para colocarlos en agrupaciones distintas, a lo anterior podría indicar que en tales fechas no es conveniente seleccionar para esta variable o se pudieron deber a errores experimentales como el procesamiento de las imágenes. Mientras que la fecha dos resultó significativa para los tratamientos (genotipos), a partir de la fecha cinco hasta la ocho se encontró una alta significancia lo cual significa que entre ellos existe diferencia. La mejor fecha que se recomienda para hacer selección es la cinco, por ser la que formo mayor número de grupos y puede discriminar de una manera más efectiva a los tratamientos (Cuadro 4.4).

En el segundo experimento el agrupamiento de medias se realizó utilizando la formula $(\sqrt{cme}/2)*2$. Los resultados encontrados en este experimento son parecidos al primero, donde las primeras tres fechas no resultaron significativas, a partir de la fecha cuatro a la siete resultaron significativas demostrando que existe diferencia entre los tratamientos colocándolos en agrupaciones distintas. En este segundo experimento las mejores fechas para discriminar a los genotipos son la cinco, seis y siete, siendo esta última la mejor, ya que fue la que formo un mayor número de grupos estadísticos.

Cuadro 4.4 Análisis general por fechas del primer y segundo experimento en base a la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)*2$

Experimentos	Fechas	1	2	3	4	5	6	7	8
Experimento 1	Nivel de Significancia	NS	*	NS	NS	**	**	**	**
	Grupos estadísticos	1	1	1	1	2	1	1	1
Experimento 2	Nivel de Significancia	NS	NS	NS	**	*	*	**	
	Grupos estadísticos	2	3	4	4	7	5	9	

NS no significativo, * significativo al $P \leq 0.05$, ** Altamente significativo al $P \leq 0.01$.

Comparación de medias de materiales genéticos

Las agrupaciones que formaron los materiales genéticos utilizados en los dos experimentos de acuerdo a las pruebas de rango múltiple aplicadas para densidad de raíz se muestran en el Cuadro 4.5.

Los resultados encontrados en el primer experimento muestran que no hay diferencia entre híbridos, lo cual significa que se comportaron de forma similar incluyendo en este mismo grupo dos líneas parentales M1B y M1D, esto significa que su densidad de raíz es tan alta como la que exhiben los híbridos, lo que sugiere que éstas pueden ser utilizadas en la escala de raíz. Según esta misma información las líneas parentales H1A, H1C y H1D son las más deficientes para densidad de raíz.

Cuadro 4.5 Agrupamiento de genotipos utilizados en los dos experimentos con base a los valores estimados de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ (DMS) para densidad de raíz.

Experimentos					
1			2		
Tukey	Media	Tratamiento	$(\sqrt{cme}/2)^*2$	Media	Tratamiento
Agrupamiento			Agrupamiento		
A	16.625	Hibrido 1A	A	10.1314286	Hibrido 2B
A	15.477	Hibrido 1C	AB	8.5571429	Hibrido 2C
AB	14.765	Hibrido 1D	ABC	7.9914286	Hibrido 2D
ABC	13.215	Hibrido 1B	BCD	6.8528571	M2C
ABC	13.172	M1B	BCDE	6.67	M2D
ABC	13.022	M1D	CDEF	5.3657143	M2B
DBC	11.522	H1B	EFG	4.0379167	H2B
DC	10.192	M1A	FG	2.8835	H2C
DC	9.765	H1A	G	2.6428571	Hibrido 2A
DC	9.71	H1D	G	2.1192857	M2A
D	8.726	H1C	G	1.8267738	H2A

Resultados del segundo experimento indican que los híbridos 2B, 2C y 2D fueron estadísticamente iguales y superiores al resto, los parentales M2C y M2D obtuvieron valores cercanos a sus descendientes híbridos, el híbrido 2A junto con sus parentales fueron los más deficientes para densidad de raíz. Una vez que se evidenció que las líneas parentales son estadísticamente diferentes se procedió a realizar un análisis entre líneas, encontrando diferencias estadísticas para las fechas y los genotipos estos resultados se muestran en los cuadros 4.6 y 4.7.

Cuadro 4.6 Análisis individual entre líneas parentales para densidad de raíz en el primer experimento.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	
Fecha	7	2518.61827	359.80261	**
rep(fecha)	8	108.5559	359.80261	
Tratamientos	6	287.652023	47.942004	**
fecha*trat	42	423.288291	10.078293	
EE	48	261.5342	5.448629	
Media			10.87286	
CV			21.46841	

EE error experimental, CV coeficiente de variación, * significativo al $P \leq 0.05$, ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

Cuadro 4.7 Análisis individual entre líneas parentales para densidad de raíz del segundo experimento.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	
Fechas	6	1121.63409	186.939014	**
rep(fec)	7	12.657344	1.808192	
Tratamientos	6	294.889807	49.148301	**
fec*trat	35	576.751387	16.478611	**
Error	32	125.703156	3.928224	
media			4.251494	
CV			46.61831	

EE error experimental, CV coeficiente de variación, * significativo al $P \leq 0.05$, ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

Con base en los resultados de los análisis de varianza anteriores se corrió una prueba de rango múltiple para agrupar las medias de densidad de raíz entre fechas de los dos experimentos (Cuadro 4.8), resultando en el primer experimento que las fechas siete y seis son las de mejor comportamiento. Las primeras cuatro fechas son estadísticamente diferentes entre sí, lo conducente es asociar estas fechas con el poder de discriminación de cada fecha, el cual va a estar dado por el número de grupos estadísticos que forme.

En el segundo experimento se realizó el agrupamiento de medias (Cuadro 4.8) utilizando la formula $(\sqrt{cme}/2)*2$ (DMS) en siete fechas de evaluación y se encontró que las fechas con mayor densidad de raíz son la seis y la siete, las primeras tres fechas son estadísticamente iguales, al igual que la fecha cuatro y cinco.

Cuadro 4.8 Agrupamiento para líneas de los dos experimentos considerando la densidad de raíces en las diferentes fechas de evaluación en base a la prueba de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)*2$ (DMS).

Experimentos					
1			2		
Tukey Agrupamiento	Media	Fechas	$(\sqrt{cme}/2)*2$ Agrupamiento	Media	Fechas
A	17.0029	7	A	12.0734	7
A	16.2314	6	A	9.47785714	6
B	13.2007	8	B	5.82942857	5
B	13.2007	5	BC	3.49785714	4
C	10.8921	4	CD	0.72107143	3
D	8.3914	3	D	0.29928571	2
E	5.45	2	D	0.29142857	1
F	2.6614	1			

En el cuadro 4.9 se muestran los resultados del agrupamiento de medias de densidad de raíz para las líneas parentales usadas en los dos experimentos encontrando para el primero que los progenitores superiores son el M1B y M1D y la más mala para densidad de raíz es la H1C. En el segundo experimento los resultados indican que los mejores son los machos 2C, 2D y 2B, ya que muestran los valores más altos, los de menor densidad son H2A, M2A y H2C, la hembra 2B tuvo un comportamiento intermedio.

Cuadro 4.9 Agrupamiento de medias entre líneas parentales para densidad de raíz en los experimentos utilizando las pruebas de Tukey y $(\sqrt{cme}/2)^*2$ (DMS).

Experimentos					
1			2		
Tukey			$(\sqrt{cme}/2)^*2$		
Agrupamiento	Media	Tratamiento	Agrupamiento	Media	Tratamiento
A	13.1725	M1B	A	6.85285714	M2C
A	13.0219	M1D	AB	6.67	M2D
BA	11.5219	H1B	ABC	5.36571429	M2B
BC	10.1925	M1A	BCD	3.86042857	H2B
BC	9.765	H1A	CD	2.8835	H2C
BC	9.71	H1D	D	2.11928571	M2A
C	8.7263	H1C	D	1.65935714	H2A

De los datos obtenidos en las mediciones realizadas en estos experimentos se graficaron para observar como fue el comportamiento de líneas durante la investigación.

En la Figura 4.1 se muestran objetivamente los datos arrojados en el primer experimento de las mediciones de densidad de raíz de cada parental durante las diferentes fechas de medida, observándose que el M1B y M1D son los superiores este resultado coincide con los del Cuadro 4.9, las H1A, H1C, H1D estadísticamente son las mas malas para producir biomasa de raíz, el M1A y H1B tuvieron un comportamiento intermedio pudiéndose considerar buenos.

En el segundo experimento (Fig. 4.2) se observa que estos genotipos fueron más diferentes, la figura indica como fue aumentando la densidad de raíz en cada línea, siendo las de mayor valor el M2C y las de menor densidad fueron los parentales M2A y H2A, coincidiendo estos resultados con los del Cuadro 4.9.

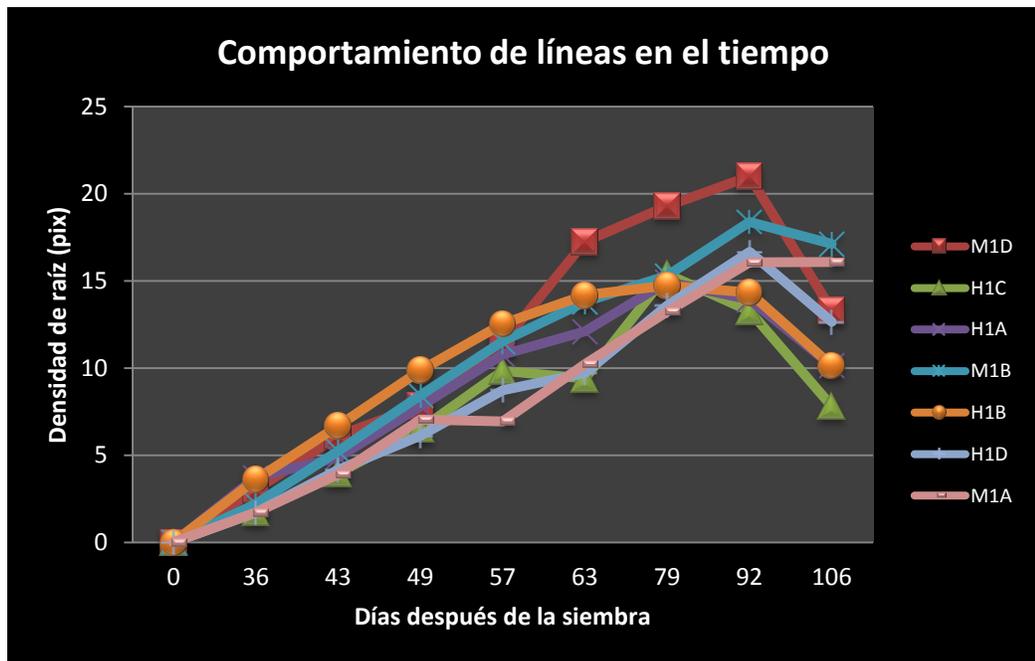


Figura. 4.1 Comportamiento de líneas parentales a través del tiempo en el primer experimento

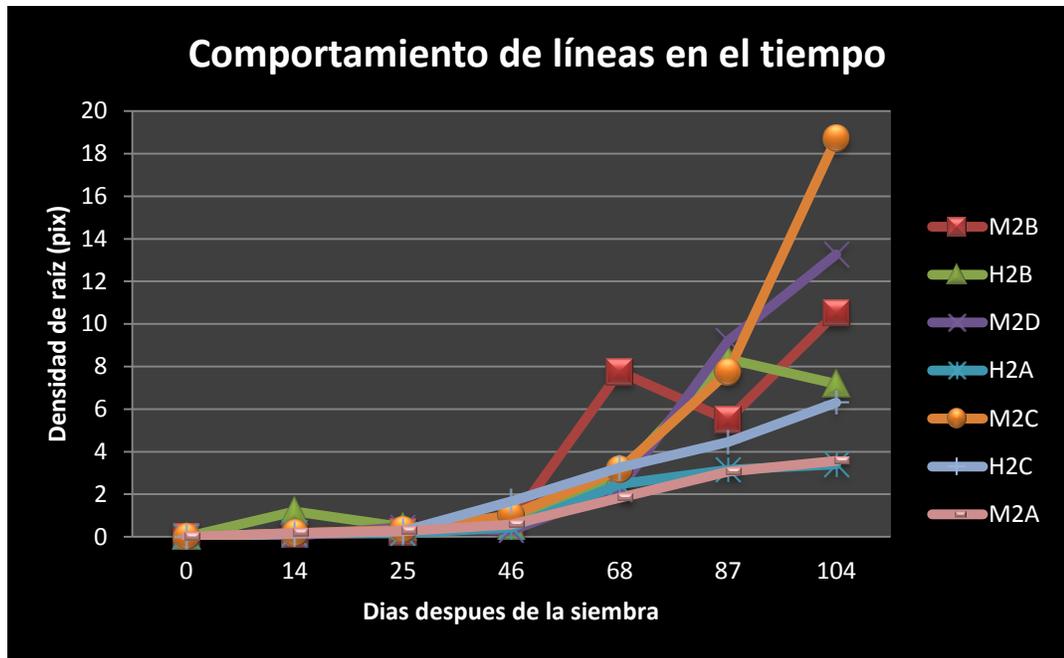


Figura. 4.2 Comportamiento de líneas parentales a través del tiempo en el segundo experimento

Los resultados obtenidos para el análisis individual de los híbridos en los experimentos se muestran en los siguientes cuadros, el análisis de varianza muestra diferencias estadísticas solo entre fechas para el primer experimento (Cuadro 4.10), sin embargo en el segundo todas las fuentes de variación fueron significativas indicando que hay mas diferencias entre estos genotipos (Cuadro 4.11).

Cuadro 4.10 Análisis de varianza para híbridos del primer experimento con la variable de densidad de raíz.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	
Fecha	7	2491.97415	355.996307	**
rep(fecha)	8	20.524362	2.565545	
Tratamientos	3	97.724942	32.574981	
fecha*trat	21	147.588045	7.028002	
EE	24	441.705988	18.404416	
media			15.02047	
CV			28.56127	

EE error experimental, CV coeficiente de variación, * significativo al $P \leq 0.05$, ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

Cuadro 4.11 Análisis de varianza para híbridos del segundo experimento con la variable de densidad de raíz.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medios	
Fechas	6	2234.730321	372.455054	**
rep(fec)	7	77.2031	11.029014	*
Tratamientos	3	444.649457	148.216486	**
fec*trat	18	459.279593	25.515533	**
Error	21	74.0341	3.525433	
media			7.330714	
CV			25.61297	

EE error experimental, CV coeficiente de variación, * significativo al $P \leq 0.05$, ** altamente significativo al $P \leq 0.01$

El Cuadro 4.12 muestra las agrupaciones de medias de densidad de raíz de los híbridos a través de fechas en los dos experimentos, encontrando en el primero que las mejores en cuanto a densidad de raíz son la seis, siete y ocho, las primeras dos fechas fueron diferentes, ya que formaron grupos diferentes, la fecha tres y cuatro son estadísticamente iguales. De acuerdo con el mismo

cuadro en el segundo experimento resultó que la mejor fecha es la siete; la seis, cinco y cuatro se comportaron diferentes, las primeras tres fueron iguales.

Cuadro 4.12 Agrupamiento de medias de densidad entre fechas de evaluación para híbridos en los dos experimentos.

Experimentos					
1			2		
Tukey Agrupamiento	Media	Fechas	Tukey Agrupamiento	Media	Fechas
A	22.925	7	A	17.0975	7
AB	20.929	6	B	14.21	6
ABC	19.223	8	C	10.4988	5
BC	17.796	5	D	6.8963	4
DC	15.059	4	E	1.7463	3
D	12.738	3	E	0.6088	2
E	8.151	2	E	0.2575	1
F	3.344	1			

Los resultados del agrupamiento de medias de densidad de raíz entre los híbridos de los experimentos se presentan en el Cuadro 4.13, en donde el primer experimento no muestra diferencias estadísticas, cabe resaltar que el Híbrido 1A fue numéricamente de mayor valor, mientras que el más deficiente fue el Híbrido 1B. Sin embargo en el segundo experimento si hay diferencias estadísticas entre estos genotipos ya que formaron más grupos estadísticos

mostrándose superiores el Híbrido 2B y el 2C, el más deficiente fue el Híbrido 2A, siguiéndole el 2D.

Cuadro 4.13 Agrupamiento de medias entre híbridos para la variable densidad de raíz en el primer experimento.

Experimentos					
1			2		
Tukey Agrupamiento	Media	Tratamiento	Tukey Agrupamiento	Media	Tratamiento
A	16.625	Híbrido 1A	A	10.1314	Híbrido 2B
A	15.477	Híbrido 1C	B A	8.5571	Híbrido 2C
A	14.765	Híbrido 1D	B	7.9914	Híbrido 2D
A	13.215	Híbrido 1B	C	2.6429	Híbrido 2A

En la Figura 4.3 se aprecia las diferencias en cuanto a densidad de raíz que produjo cada híbrido utilizado durante la investigación, se observa claramente que hay una tendencia muy similar y tratando de ser objetivos, el Híbrido 1C es el que mostró una mayor producción de raíz; se comprobó estadísticamente y en la figura en que el Híbrido 1B es el de menor valor, el Híbrido 1D junto con el Híbrido 1A tuvieron un buen comportamiento durante todo el periodo del experimento.

Prácticamente todos los híbridos tuvieron un descenso en la producción de raíz a partir de los 92 días después de sembrados, debido a que ya estaban en la etapa de llenado de grano y ligado con el tamaño del rizotron lograron ser causa del decrecimiento de la raíz.

El comportamiento de los híbridos en el segundo experimento fue diferente, observándose que desde el día en que se sembraron fueron iguales hasta los 45 días y a partir de ahí empezaron a demostrar su potencial para la producción de raíces, en la Figura 4.4 se aprecian las diferencias. Siendo el mejor Híbrido el 2B y el más deficiente el 2A estos resultados coinciden con los del Cuadro 4.13.

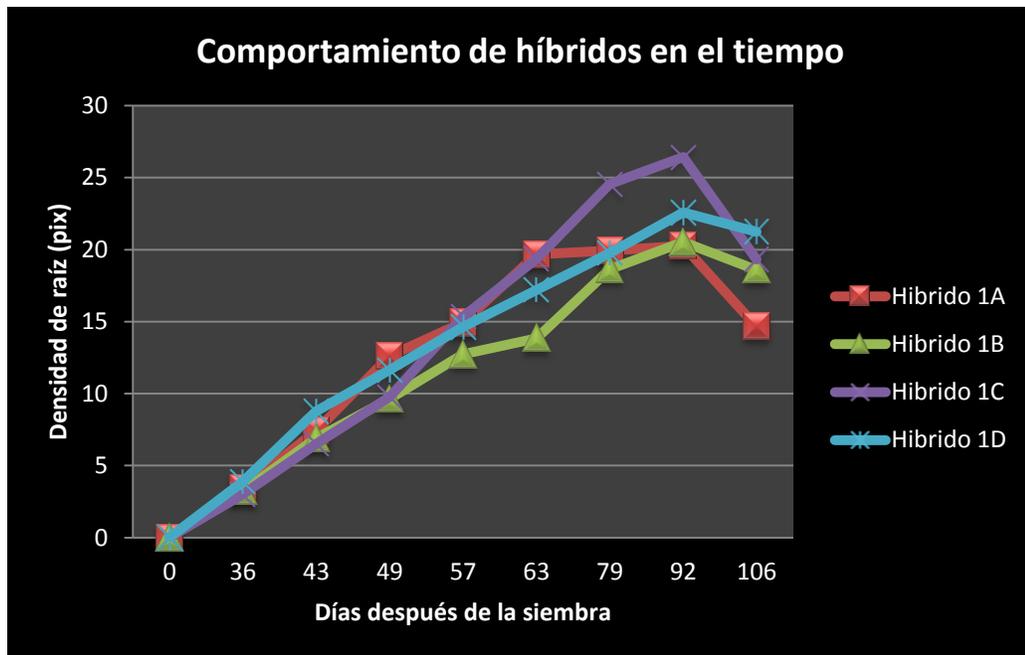


Figura. 4.3 Comportamiento de híbridos a través del tiempo en el primer experimento

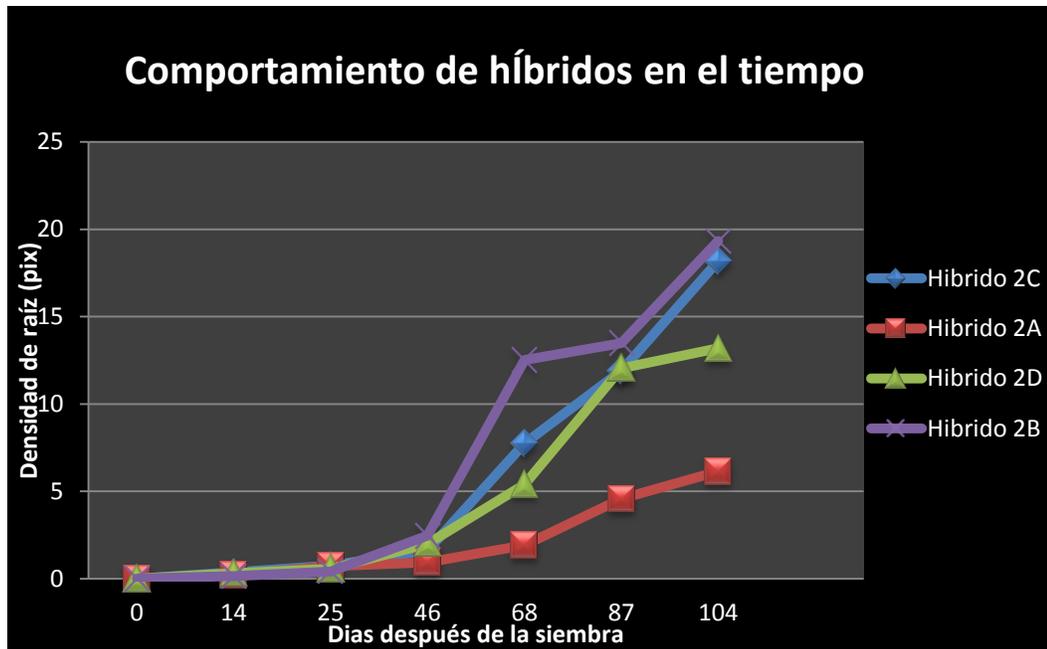


Figura. 4.4 Comportamiento de híbridos a través del tiempo en el segundo experimento

Método novedoso de estimación de densidad raíces

El uso de la técnica del rhizotron en este experimento permitió un desarrollo óptimo de la planta y con ello realizar múltiples observaciones de diferentes variables de la raíz en el tiempo de la misma unidad experimental. El método se considera muy práctico y de un muestreo no destructivo. Steen E, 1991 menciona que los rhizotrones son una buena herramienta para el estudio de raíces ya que las investigaciones son de naturaleza destructiva (biomasa) ello limita la posibilidad de saber más sobre su fisiología, ecología y estructura arquitectónica.

Los rhizotrones son relativamente fáciles de construir dado que sus materiales utilizados para su construcción no son sofisticados pero requieren de una alta inversión de inicio y su rentabilidad depende del número de científicos que los utilicen en estos tipos de estudios. Se pueden usar por varios años en estudios biológicos relacionados con raíces siempre y cuando se les de un mantenimiento adecuado y continuo para que tengan una alta durabilidad.

Estos rhizotrones resultan un poco difícil de manejar al momento de hacer las observaciones, hay que estar moviéndolos usando la propia fuerza sin alguna palanca de por medio. La propuesta de estimación de la densidad de la raíz con fotometría tiene la ventaja de que resulta barato ya que se usa una cámara fotográfica convencional, esta técnica ha sido utilizada ampliamente en distintos campos de la biología, sin embargo, no existe mucha investigación en cuanto a su uso en las variables de raíces.

La utilización de software libre como el ImageTool puede minimizar los costos de estudios de raíces por concepto de comprar un software comercial para el análisis de raíces. Unas de las desventajas de este software es que requiere de tiempo para adiestrarse en el manejo, también para digitalizar las imágenes ya que los análisis son manualmente. Se deben tomar en cuenta estos puntos importantes para que al momento de sacar los datos sean lo más precisos posibles.

Propuesta de la escala diagramática de densidad de raíces

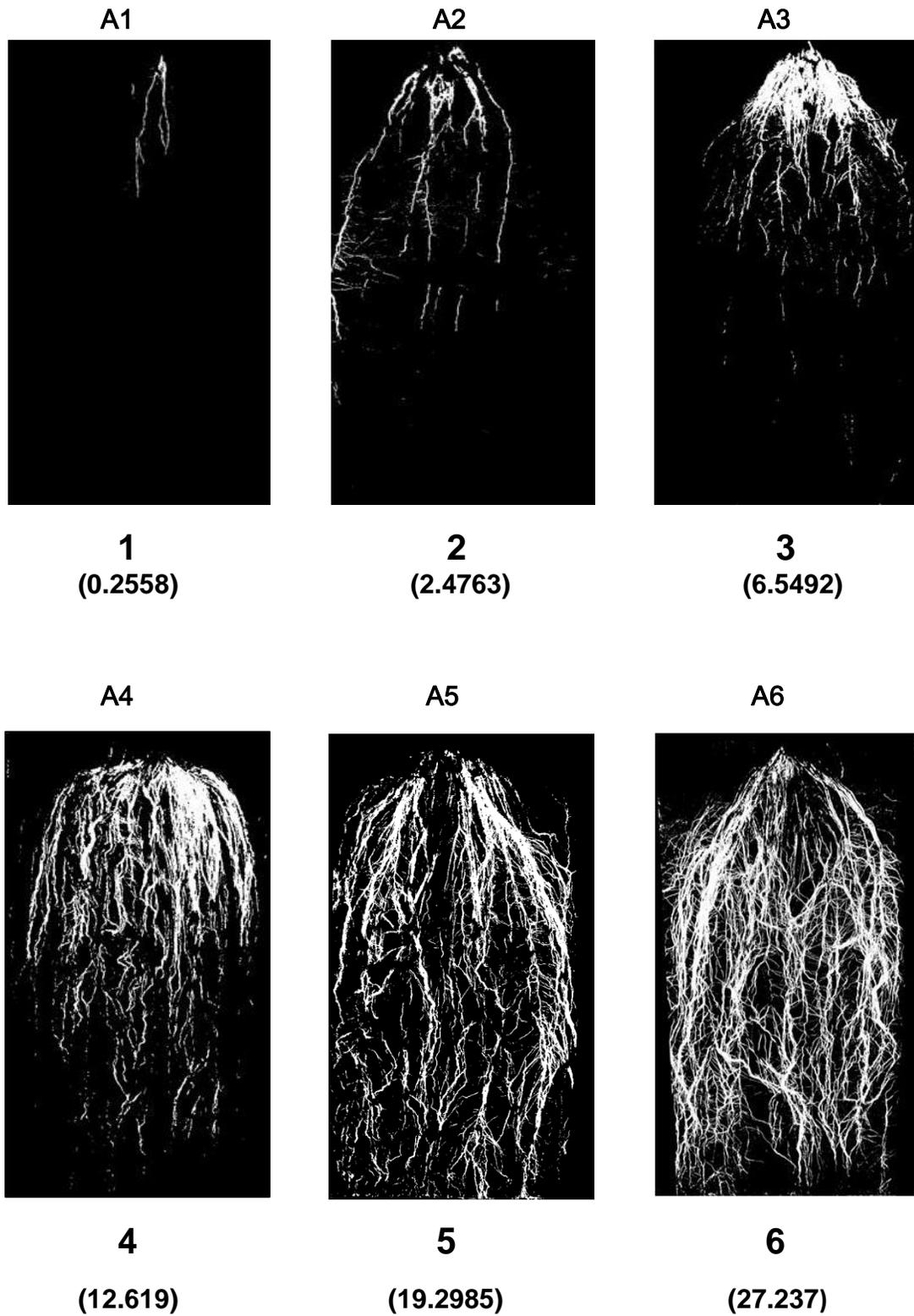
Se pudo determinar que mediante los usos de las técnicas del rizotron y fotometría, fue posible proponer una escala diagramática visual de densidad de raíces con valores cuantitativos lineales y de fácil uso como mencionan Berger, 1980; Nutter Jr. & Schultz, 1995. Con base a los análisis de varianza donde se identificaron diferencias entre genotipos y fechas de evaluación, se determinó que la dinámica de crecimiento permite crear una escala diagramática visual que deje discriminar la densidad de raíces a diferentes tiempos de evaluación y diferentes genotipos bajo las condiciones en que se desarrollaron estos experimentos. Con base a los estudios no existe hasta el momento una escala diagramática visual que permita estimar la densidad de la raíz.

Esta escala tiene la ventaja de ser práctica en el momento de uso por personas con un grado superior de estudio para realizar las estimaciones de densidad de raíz. Una desventaja de la misma, para determinar la reproducibilidad es realizar más evaluaciones ya que solo se realizó una con diez evaluadores.

Cuadro 4.14. Escala recomendada para medir densidad de raíz en líneas e híbridos a través del tiempo.

Clases	Valores reales de densidad	Intervalo de Clases (Densidad)	Frecuencia	Porcentaje
1	0.051-0.88	0.0-0.99	54	13.35
2	1.146-3.978	0.99-1.98	71	17.88
3	4.144-8.97	1.98-2.97	78	19.65
4	9.02-15.98	2.97-3.96	108	27.20
5	16.04-24.79	3.96-4.95	78	19.65
6	25.067-29.51	4.95-5.94	8	2.02

Figura 4.5 Escala diagramática para medir densidad de raíz con las clases (1-6) y puntos medios de la clase.



Validación de la escala diagramática de densidad de raíces

Los resultados de la validación de la escala propuesta (Cuadro 4.15) muestran que es funcional y práctica ya que permitió discriminar y clasificar las diferentes raíces sometidas a evaluación por los evaluadores.

Al realizar regresiones lineales de los valores reales de las fotos con los valores estimados de cada uno de los diez evaluadores, en todos los casos las regresiones lineales fueron estadísticamente significativas y los valores de los coeficientes de determinación R^2 estuvieron en el rango de 0.46 a 0.95, el evaluador dos obtuvo un coeficiente de determinación muy bajo esto indica que no estimó con buena aproximación los valores de las fotos evaluadas, lo anterior significa que la escala puede no permitir una buena evaluación en una proporción de 1 en 10 veces.

Estos resultados se asemejan a los encontrados en otros patosistemas (Nascimento *et al*, 2005; Michereff *et al*. 2006). Sin embargo, existen otros factores que pueden influenciar las estimaciones visuales de las fotos como, el estado mental del evaluador, condiciones del lugar del evaluador o aspectos relacionados a la psicofísica que estudia la relación entre el estímulo físico y la percepción del observador (Nutter, *et al.*, 2006). Además Kranz (1988) también menciona que la estimación puede estar influenciada por la complejidad de la imagen, el tamaño, forma y color.

Cuadro 4.15 Análisis de regresión lineal con base en los datos encuestados de diez evaluadores con ayuda de una escala

Evaluador	R ²	NS	b ₀	b ₁
1	0.923	**	0.805	0.994
2	0.466	**	3.418	0.871
3	0.879	**	1.605	0.917
4	0.902	**	0.989	0.899
5	0.819	**	1.969	0.852
6	0.846	**	0.937	1.067
7	0.834	**	1.260	1.172
8	0.953	**	0.153	0.894
9	0.841	**	0.696	0.915
10	0.896	**	-0.625	1.153

R²= coeficiente de determinación, NS= Nivel de significancia, b₀= Intercepto, b₁= pendiente

CONCLUSIONES

El método utilizado para medir densidad de raíz con el programa ImageTool resultó efectivo permitiendo realizar una escala cuantitativa con los datos obtenidos en estos análisis.

La escala de densidad de raíz se realizó juntando los datos en fecha y material genético, los cuales se transformaron a raíz cuadrada para obtener parámetros de distribución normal a partir de estos se generaron intervalos de clase los que permitieron construir la escala propuesta, la cual resultó práctica y de fácil uso.

LITERATURA CITADA

- Berger RD (1980) Measuring disease intensity. In: Teng PS, Krupa SV (Eds.) Crop loss assessment. Saint Paul MN. University Minnesota. pp. 28-31.
- Bordens KS and Abbott RB (1996) Research Design and Methods – A Process Approach, Mayfield Publishing Company, Mountain View, CA.
- Carter, P. R. 1985. Corn lodging prevention. Crops and soils Magazine 37 (6): 8-11.
- DeVellis RF (1991) Scale development. Applied Social Research Methods Series, Sage Publications, Newbury Park, CA.
- Feldman, L. 1994. The maize root. *In*: M. Freeling & V. Walbot, eds. *The maize handbook*, p. 29-37. New York, NY, USA, Springer-Verlag.
- Gregory, P.J. 1979. A periscope method for observing root growth and distribution in field soil. J. Exp. Bot. 30:205-214.
- Hall, N.S., W.F. Chandler, C.H.M. Van Bavel, P.H. Reid, and J.H. Anderson. 1953. A tracer technique to measure growth and activity of plant root system. North Carolina Agric. Exp. Stn. Tech. Bull, 101.
- Hebert, Y., Y. Barriere, and J. C. Bertholeau. 1992. Genotype x environment in interaction for root traits in maize, as analyzed with factorial regression models. Euphytica 81:85-92.
- Horsfall JG and Barratt RW (1945) An improved grading system for measuring plant disease. Phytopathology 35: 655 abstr.
- Huck, M. G., and H. M. Taylor. 1982. The rhizotron as a tool for root research. Adv. Agron. 35: 1-35.
- H.R. Lafitte. 1993. Identificación de problemas en la producción de maíz tropical. Guía de campo. México, D.F.: CIMMYT.
- Jugenheimer, R. W. 1981 Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semilla. Traducción de R. Piña G. Limusa México pp. 247-254.
- Keng, J.C.W., T.W. Scott, and M.A. Lugo-Lopez. 1979. Fertilizer management with drip irrigation in an Oxisol. Agron. J. 71:1971-1980.
- Kevern, T., C., and A. R. Hallauer, 1983. Relation of vertical root-pull resistance and flowering in maize. Crop. Sci. 23:357-363.

- Koinuma, K., F. Ikegaya and E. Ito. 1998 Heterotic effects for root lodging resistance in F1 hybrids among dent flint inbred lines of silage maize. *Maydica* 44:13-17.
- Kranz J (1988) Measuring plant disease. In: Kranz J and Rotem J (eds) *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology* (pp 35–50) Springer-Verlag, New York.
- Mc. CRIMMON, J.N.; KARNOK, K.J. 1992. "Nitrogen form and the seasonal root and shoot response of creeping bentgrass." *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 23 (9-10): 1071-1088.*
- MERRIL, S.D. 1992 "Pressurized-wall minirhizotron for field observation of root growth dynamics", *Agronomy Journal* 84(4) 755-758.*
- Michereff SJ, Andrade DEGT, Noronha MA (2006) Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação de severidade do carvão da folha do caupi. *Summa Phytopathologica* 32:51-56.
- Mistrik, I. & Mistrikova, I. 1995. Uptake, transport and metabolism of phosphates by individual roots of *Zea mays* L. *Biologia* (Bratislava), 50:419-426.
- Mora-Aguilera, G., Rivas-Valencia, P., Góngora-Cannul, C., Tovar-Soto, A., Cristóbal-Alejo, J., Loeza-Kuk, E., Michereff, S., Marinelli, A y Osada-Velazquez, K. 2003. Sistemas Computarizados en la Epidemiología I. 2-LOG ver 1.0 y su Aplicación en el diseño de Escalas Diagramáticas Logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola 15-12 de octubre, Puerto Vallarta, Jalisco, México. Pp. 2-22.
- Nascimento ARP, Michereff SJ, Mariano RLR, Gomes AMA, (2005) Elaboração de escala diagramática para o cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica* 31:59-64.
- Nutter Júnior FW, Schultz PM (1995) Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17:174-184.
- Poehlman, J. M., and D. A. Sleper, 1995. *Breeding field crops*. 4^a ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa.
- Roger, W.S. 1969. The East Malling root-observation laboratories. p. 361-376. *In* W.J. Whittington (ed.) *Root growth*. Butterworth and Co., Ltd., London.

- Sarasola de, M. A., E. J. Alliot and A. A. Sarasola 1970. Vuelco del maíz. II. Sus relaciones con altura, diámetro inferior del tallo, volumen aéreo, volumen radical e índice parte aérea-raíz de las plantas. Revista de Investigaciones Agropecuarias, INTA. 7:77-88.
- Sanders, J.L., and D.A. Brown.1978. A new fiber optic technique for measuring root growth of soybeans under field conditions. Agron. J. 70:1073-1076.
- STEEN, E. 1991. "Usefulness of the mesh bag method in quantitative root studies.", Plant Root Growth an Ecological Prespective." Plant Root Growth and Ecological Prespective., British Ecological Soc, Special Pub. 1982-1991. No. 10: 75-86. Blackwell Scientific Pub. Oxford.
- Taylor, H. M. and Willatt, S. T. 1981.Utilization of rhizotrons in root research.*In:*The Soil/Root System in Relation to Brazilian Agriculture. Eds. R. S. Rusell, K. Igue and Y. R. Mehta.pp 319-337. InstitutoAgronomíado Parana, Londrina, Brazil: IAPAR.
- Taylor, H.M., M.G. Huck, B. Hepper, and Z.F. Lund. 1970. *Measurement of soil-grown roots in a rhizotron.* Agron. J. 62:807-809.
- Thompson, D. L. 1982. Grain yield of two synthetics for corn after seven cycles of selection for lodging resistance. Crop Sci. 1207-1210.
- Thompson, D. L. 1972. Recurrent selection for lodging susceptibility and resistance in corn. Crop Sci. 12:631-634.
- Tovar- Soto. S.A., Hernández, M. M., Cristóbal-Alejo, J., Romero-Hijo, R., y Mora-Aguilera, G. 2002. Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*collectotrichum gloeosporioides* Penz.) en Chirimoyo (*Annona chrimolla* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 20:103-109.
- Upchurch, D. R and Ritchie, J T 1983 Agron. J. 75, 1009-1015.
- Welbank, R.J., and E.D. Williams.1968 Root growth of a barley crop estimated by sampling whit portable powered soil-corning equipment. J. Appl. Ecol. 5:477-481.
- Waddington, J. 1971. Observation of plant roots in situ. Can. J. Bot. 49:1850-1852.
- Wiersma, D. W., E. S. Oplinger and S. o. Guy. 1986. Environment and cultivar effects on winter wheat response to ethephon plant growth regulator. Agron. J. 78: 761-764.

APÉNDICE

A7



0-1
(0.8803)
(0.938243039)

A8



1-2
(3.3958)
(1.842769655)

A9



2-3
(4.9527)
(2.225466243)

A10



3-4
(13.9251)
(3.73163503)

A11



4-5
(17.2847)
(4.157487222)

A12



1-2
(2.2096)
(1.486472334)

A13



2-3
(7.6316)
(2.762535068)

A14



3-4
(15.9651)
(3.995635118)

A15



4-5
(20.6355)
(4.542631396)

A16



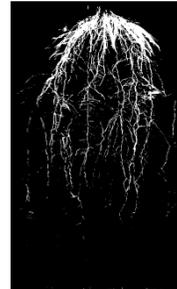
5-6
(27.7293)
(5.265861753)

A17



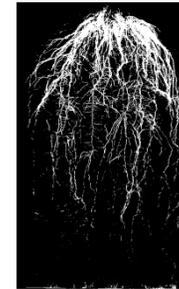
1-2
(2.454)
(1.566524816)

A18



2-3
(7.9586)
(2.821099077)

A19



3-4
(13.3141)
(3.648849134)

A20



1-2
(3.6393)
(1.907694944)

A21



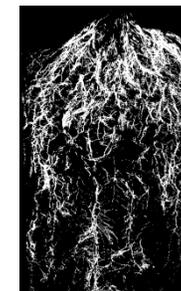
2-3
(6.5439)
(2.558104767)

A22



3-4
(15.9772)
(3.997148984)

A23



4-5
(22.0825)
(4.69920206)

A24



1-2
(3.7703)
(1.941726036)

A25



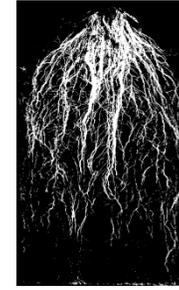
2-3
(8.7233)
(2.95352332)

A26



3-4
(13.91)
(3.72961124)

A27



4-5
(17.2305)
(4.150963744)

A28



1-2
(3.8477)
(1.961555505)

A29



2-3
(5.412)
(2.326370564)

A30



3-4
(15.2899)
(3.910230172)

A31



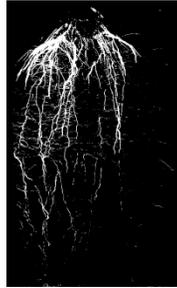
4-5
(19.3615)
(4.400170451)

A32



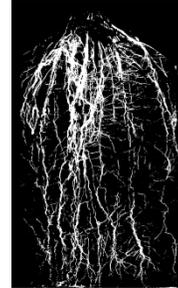
1-2
(2.5552)
(1.598499296)

A33



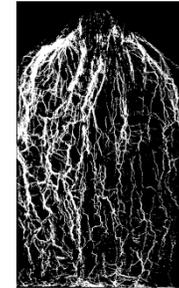
2-3
(7.7088)
(2.776472582)

A34



3-4
(15.8605)
(3.982524325)

A35



4-5
(22.3285)
(4.725304223)

A36



1-2
(3.7816)
(1.893224762)

A37



2-3
(6.8126)
(2.610095784)

A38



3-4
(13.7365)
(3.706278457)

A39



4-5
(23.794)
(4.877909388)

A40



5-6
(26.4033)
(5.138414152)

A41



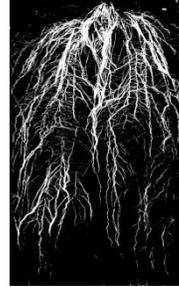
1-2
(1.3113)
(1.145120081)

A42



2-3
(7.8554)
(2.802748651)

A43



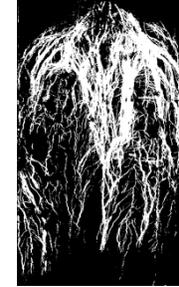
3-4
(15.8782)
(3.984745914)

A44



4-5
(24.0513)
(4.904212475)

A45



5-6
(29.5165)
(5.432908981)

A46



1-2
(3.9378)
(1.984389075)

A47



2-3
(7.6181)
(2.810427014)

A48



3-4
(15.7961)
(3.974430777)

A49



4-5
(24.7959)
(4.979548172)

A50



5-6
(25.6738)
(5.066932011)

A51



1-2
(1.2485)
(1.117362967)

A54



2-3
(7.2418)
(2.691059271)

A55



3-4
(14.1352)
(3.759680838)

A56



4-5
(24.6115)
(4.960997883)

A57



0-1
(0.255397)
(0.505367957)

A58



1-2
(8.9791)
(2.996514707)

A59



2-3
(9.435077)
(3.071657112)

A60



3-4
(17.70594)
(4.207842487)

A61



4-5
(22.0745)
(4.698350935)

A62



0-1
(0.254088)
(0.504071482)

A63



1-2
(2.473453)
(1.572721629)

A64



0-1
(0.821534)
(0.906384858)

A65



1-2
(2.946464)
(1.716526819)

A66



2-3
(7.182171)
(2.67995734)

A67



0-1
(0.331242)
(0.575535879)

A68



1-2
(1.699891)
(1.303798848)

A69



2-3
(4.967548)
(2.228799634)

A70



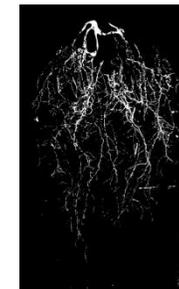
0-1
(0.616918)
(0.785441013)

A71



1-2
(2.200054)
(1.483257994)

A72



2-3
(5.974862)
(2.444353057)

A73



0-1
(0.862589)
(0.928756758)

A74



1-2
(3.977599)
(1.994391923)

A75



2-3
(6.347455)
(2.519415671)

A76



3-4
(13.88269)
(3.725947536)

A77



4-5
(20.1296)
(4.486602293)

A78



0-1
(0.74424)
(0.862693167)

A79



1-2
(3.463991)
(1.861179872)

A80



2-3
(7.518797)
(2.742042546)

A81



3-4
(14.74852)
(3.840380655)

A82



0-1
(0.665575)
(0.815827595)

A83



1-2
(3.645708)
(1.909373627)

A84



3-4
(10.20208)
(3.194069801)

A85



4-5
(23.92626)
(4.891448007)

A86



0-1
(0.641574)
(0.800983265)

A87



1-2
(3.32028)
(1.822163514)

A88



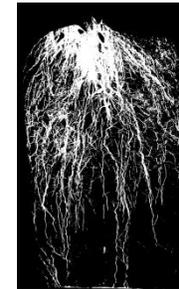
2-3
(8.333559)
(2.886790367)

A89



3-4
(15.75509)
(3.969268458)

A90



4-5
(22.87471)
(4.78275174)

A91



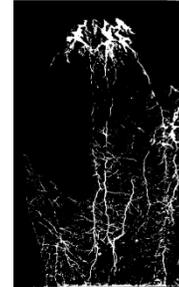
0-1
(0.680958)
(0.825201718)

A92



1-2
(3.469716)
(1.862717487)

A93



2-3
(8.831984)
(2.971865421)

A94



0-1
(0.77977)
(0.88304584)

A95



1-2
(1.673263)
(1.293546672)

A96



2-3
(5.733365)
(2.394444688)

A97



3-4
(13.10522)
(3.620113751)

A98



4-5
(23.00802)
(4.796667524)