

Comportamientos diferenciales a la podredumbre blanca de capítulos detectados empleando una cantidad mínima de recursos en híbridos de girasol

Minimum amount of resources for detecting different performances of sunflower hybrids to white rot

Santiago Germán Delgado

Unidad Integrada Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina

Fernando Daniel Castaño*

Unidad Integrada Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina

María Gabriela Cendoya

Unidad Integrada Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina

Revista de la Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1669-9513

Periodicidad: Continua

vol. 122, 2023

redaccion.revista@agro.unlp.edu.ar

Recepción: 26 de diciembre 2022

Aprobación: 29 de mayo 2023

Publicación: marzo 2024

URL: <http://portal.amelica>

DOI: <https://doi.org/10.24215/16699513e135>

Autor de correspondencia: castanio.fernando@inta.gob.ar fcastano@mdp.edu.ar

Resumen

Sclerotinia sclerotiorum provoca la podredumbre blanca del capítulo (PBC) en girasol, el cual le ofrece una resistencia de tipo cuantitativa. Consecuentemente, los programas de mejoramiento desarrollaran híbridos moderadamente resistentes a PBC para minimizar los daños potenciales de la enfermedad. La selección de híbridos se efectúa en ensayos multiambientales; no obstante, esta estrategia acarrea un gasto elevado. El objetivo fue hallar la asignación más adecuada de los recursos disponibles, aplicados en los ensayos tendientes a diferenciar híbridos por su nivel de resistencia a la PBC. Por ello en Balcarce se realizaron, durante 3 años, experimentos en el campo bajo un diseño en bloques completos aleatorizados con 3 repeticiones, en los que 37 híbridos fueron inoculados de forma asistida con *S. sclerotiorum*. A los capítulos enfermos se les midió el período de incubación relativo-PIR y el crecimiento diario relativo de la lesión-CLR (dos componentes de la resistencia parcial a aquella enfermedad). Se estimaron los BLUPs para cada híbrido, empleando todos los recursos disponibles (i.e. 108 plantas/híbrido, resultantes de la combinación 3 años, 3 repeticiones y 12 plantas/parcela), así como para aquellas combinaciones involucrando niveles menores de recursos. La prueba de la diferencia mínima significativa distinguió híbridos según sus BLUPs. Para ambas variables, hubo comportamientos diferenciales con la totalidad y con niveles menores de recursos. Los resultados mostraron la posibilidad de diferenciar, en un mismo ensayo, híbridos por su PIR y CLR ahorrando el 50% de los recursos disponibles al inicio de la experimentación, sin que la evaluación genotípica sea significativamente afectada.

Palabras clave: asignación de recursos, resistencia cuantitativa, selección, mejoramiento genético, *Helianthus annuus*

Abstract

Sunflower is susceptible to *Sclerotinia sclerotiorum* attacks on capitula. Consequently, breeding programs must develop hybrids moderately resistant to white rot (WR) in order to minimize potential disease damages. The selection of hybrids for their WR performance is made in trials across several environments but this strategy entails a high cost in breeding programs. The objective was to find an adequate combination of resources that allows differentiating hybrids based on their WR performance. In Balcarce 37 cultivars, distributed in a randomized complete block design with 3 replications, were inoculated with *S. sclerotiorum* ascospore during 3 years. In diseased plants, the relative incubation period-PIR and the relative daily growth of the lesion-CLR (two components of the partial WR resistance) were measured. For each hybrid, BLUPs were estimated using, first, 108 plants/hybrid resulting from the combination of 3 years, 3 replications and 12 plants/plot (i.e. all the available resources were used). And then estimations were made for those combinations involving lower levels of resources. The least significant difference test differentiated hybrids by their BLUPs. For both variables, differential performances were detected with all of those resources as well as lower levels of them. Results showed the possibility to differentiate hybrids by their PIR and CLR performance in the same trial, saving until 50% of the available resources, without the genotypic evaluation being significantly affected.

Key words: resource allocation, genetic improvement, selection, quantitative disease resistance, *Helianthus annuus*

INTRODUCCIÓN

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es un cultivo estival arraigado y difundido en la Argentina, dado que el aceite obtenido desde sus granos es muy codiciado por su calidad Premium (Castaño, 2018). En el año agrícola 2021/22, los agricultores locales cosecharon unas 3,57 millones de ton de granos; se destaca que el 69% de esa producción se generó en la región del sur y sudeste de la provincia de Buenos Aires (Di Yenno & Calzada, 2022). Para un futuro próximo las perspectivas del cultivo son favorables visto que, para 2022/23, se proyecta un incremento del 10% de granos a cosechar respecto de la campaña agrícola anterior (López, 2022).

El girasol es afectado por diferentes agentes bióticos. Uno de los más importantes es el hongo ascomicete *Sclerotinia sclerotiorum* que provoca, entre otras enfermedades, la podredumbre blanca del capítulo (PBC). El tipo de suelo y las condiciones meteorológicas predominantes en dicha región bonaerense, además de generar un ambiente propicio para el cultivo, son, desafortunadamente, también favorables a la aparición de la PBC (Castaño, 2018). La PBC disminuye el rendimiento de los híbridos con nivel bajo de resistencia. En este sentido Gulya et al. (1986) cuantificaron, en los estados de Dakota del Norte y D. del Sur, y de Minnesota (EEUU), una reducción del 34% del rendimiento en cultivos con PBC, respecto de aquéllos que no mostraban capítulos con síntomas de la enfermedad. Según dichos autores, la merma se relacionó principalmente con la disminución de la cantidad de granos/capítulo, y, en menor medida, del peso de los granos y su porcentaje de aceite. En nuestro país Agüero et al. (2001) mostraron, al trillar capítulos enfermos de un híbrido con un 60% de severidad de PBC, que la muestra cosechada tenía un 31% menos de aceite y un 53% más de acidez, respecto de aquélla obtenida desde capítulos del mismo híbrido sin PBC. Estos autores señalaron que, en el producto cosechado de los capítulos enfermos, el contenido de granos definió la reducción del contenido de aceite, en tanto que la cantidad de esclerocios determinó el alza de su acidez.

S. sclerotiorum genera en la inflorescencia infectada un micelio blanco el cual tiene la particularidad de, por un lado, darle el nombre a la enfermedad provocada y, por el otro, de deshidratarse y compactarse a fin de generar un gran número de esclerocios. Ocurrida la podredumbre, los esclerocios se ubican en el interior del capítulo en gran número, con forma irregular y tamaño no mayor al de un grano. Si la humedad ambiental es elevada el micelio blanco externo, crecido entre las flores y granos, llega a producir un gran esclerocio plano, con pequeños orificios que dan la apariencia de una red. Los esclerocios son los órganos mediante los cuales *S. sclerotiorum* perdura en el tiempo, permaneciendo en estado de latencia hasta que el medio sea favorable para su germinación (Gulya et al., 1997). Debe destacarse que, los esclerocios son la causa de daños indirectos al cultivo de girasol. Por un lado, los capítulos enfermos pueden disgregarse y su contenido (i.e. granos y esclerocios) caen al suelo. Así, estos últimos, pueden conservarse varios años y ser el inicio de futuras infecciones de cualquier especie hospedante y susceptible a *S. sclerotiorum* cultivada en ese campo contaminado con los esclerocios. Por otra parte, la cosecha de lotes en los que haya capítulos enfermos hace que los esclerocios no puedan ser totalmente separados de los granos cosechados, por poseer un peso específico y tamaño semejante a los mismos. Dicha presencia afectará la calidad de granos cosechados ofrecidos, en relación a los estándares de venta (SENASA, 1994; Agüero et al., 1997). Así, los agricultores podrían ver rebajado significativamente dicho precio, debido, por un lado, al excedente de cuerpos extraños respecto de lo señalado en las normas de calidad para la comercialización y, por el otro, debido al incremento de la acidez del aceite por encima de la base establecida para la tolerancia de recibo. En consecuencia, los productores girasoleros del sudeste bonaerense deben emplear cultivares híbridos moderadamente resistentes a dicha enfermedad a fin de reducir los potenciales riesgos tanto directos como indirectos, ocasionados por la aparición de la PBC.

Los agricultores de la Argentina y de los demás países que siembran girasol utilizan, casi en su totalidad, cultivares híbridos simples (Castaño, 2018). Para ser empleados en el sudeste bonaerense esos híbridos deben poseer, además de un rendimiento elevado de materia grasa, un comportamiento destacado frente a la PBC. Para seleccionar por la resistencia a dicha enfermedad, los materiales genéticos deben evaluarse, anualmente, bajo un protocolo de inoculación asistida llevado a cabo en el campo. Entre los criterios de selección empleados por los mejoradores, Delgado et al. (2020) sugirieron cuantificar, en los capítulos enfermos, el período de incubación relativo-PIR (Vear & Tourvieille, 1984) junto al crecimiento diario relativo de la lesión-CLR (Castaño & Giussani, 2006), dado la independencia genética que hay entre ambos. Así, la selección por PIR y CLR en simultáneo y el consecuente apilamiento de los genes que gobiernan dichos caracteres, propiciará, en concordancia con lo discutido

por Castaño & Giussani (2009), el incremento del nivel de resistencia al crecimiento del patógeno, dentro de los tejidos de la inflorescencia, luego de ocurrida la infección.

Debido a que la resistencia que ofrece el girasol a la PBC es de tipo cuantitativa, la realización de ensayos en varios ambientes sería la situación ideal a fin de medir adecuadamente la enfermedad (Godoy et al., 2005, 2012). No obstante, debe tenerse muy en cuenta que un porcentaje relativo elevado del presupuesto asignado a la creación de cultivares se destina a la evaluación en ensayos multiambientales (Fehr, 1991). Por esto, resultaría de interés conocer la posibilidad de hacer un uso más eficiente de los recursos disponibles sin que, por ello, se vea perjudicada la precisión con que los individuos con el genotipo más favorable para el nivel de resistencia son identificados. La detección de los mejores genotipos se realiza frecuentemente a través de observaciones fenotípicas. Para los caracteres cuantitativos, como lo es la resistencia a la PBC, la literatura muestra trabajos que basan dicha selección en los valores genotípicos, para reducir la influencia de factores que alteran la correlación genotipo-fenotipo. En este sentido, se destaca la estimación de los valores genotípicos, a través del mejor predictor lineal no sesgado o, de su denominación en inglés, “*best linear unbiased prediction* (BLUP)” (Robinson, 1991). Trabajos bastante recientes, realizados en nuestro país por Bermejo et al. (2019), Biasutti et al. (2014) y Cazzola et al. (2019), dan cuenta del empleo de BLUPs para detectar y seleccionar genotipos de lenteja, maíz y arveja, respectivamente, como progenitores potenciales de nuevas variedades en dichos cultivos. En el girasol, dichos predictores fueron utilizados para señalar híbridos, con genotipo favorable para controlar los efectos de *S. sclerotiorum* en capítulos, a ser empleados en la mejora del nivel de resistencia a la PBC (Delgado et al., 2020).

El fin de todo ensayo comparativo es encontrar diferencias entre tratamientos. En el girasol, es escasa la bibliografía respecto del uso eficiente de los recursos disponibles en la caracterización de híbridos por sus atributos agronómicos, en general, y por su nivel de resistencia a la PBC, en particular. En un trabajo previo, Dinon et al. (2019) señalaron el tamaño de parcela más conveniente con el objeto de reducir los costos operativos en la evaluación de híbridos basada en la medición del componente de la resistencia parcial incidencia de la PBC, a partir de inoculaciones asistidas con *S. sclerotiorum*. En ese sentido, está el interés en desarrollar información respecto a la capacidad de disponer una cantidad mínima de repeticiones, de ambientes y/o de plantas/parcela, en los ensayos comparativos tendientes a detectar diferencias entre los conjuntos de genes (i.e. genotipos) que controlan otros componentes de la resistencia parcial a la PBC, como lo son PIR y CLR (Castaño & Giussani, 2009), en los híbridos evaluados. De esta manera, se conseguiría conocer, por un lado, la posibilidad de adecuar el empleo de los recursos disponibles y, por el otro, si los niveles de recursos a utilizar coinciden para los distintos componentes de dicha resistencia. En consecuencia, el objetivo del presente trabajo fue señalar la combinación de recursos (entre los disponibles) que involucrando niveles mínimos de años, repeticiones y cantidad de plantas/parcela, permita señalar diferencias significativas entre dos valores de BLUP caracterizando el valor genotípico de los híbridos según su nivel de resistencia a la PBC en el sudeste de la provincia de Buenos Aires.

METODOLOGÍA

EXPERIMENTOS REALIZADOS Y EVALUACIÓN DEL NIVEL DE RESISTENCIA A S. SCLEROTIURUM

Un total de 37 híbridos de girasol, elegidos al azar de la lista de cultivares comercializados en la región sudeste de la provincia de Buenos Aires, se distribuyeron, durante los años 2010, 2011 y 2012, según un diseño experimental de bloques completos aleatorizados con 3 repeticiones ubicado en el campo de la Unidad Integrada Balcarce-UIB. Durante los 3 años hubo, en las adyacencias de cada ensayo, parcelas de 2 híbridos comerciales que fueron utilizados como testigos de floración (e.g. ensayos detallados en Delgado et al., 2020).

Para generar enfermedad en el experimento, se empleó el protocolo de inoculación francés (Vear & Tourvieille, 1988), utilizado corrientemente en la evaluación de la PBC en todos los programas de mejoramiento por resistencia a dicha enfermedad. Brevemente, en cada ensayo se inocularon anualmente 12 plantas/parcela (pl/p) que se encontraban en el estadio R5.3 (Schneiter et al., 2019) o su homólogo F3.2 (Martin-Monjaret 2019). Debido a la variabilidad de floración, dentro y entre parcelas, hubo entre 3 y 4 fechas de inoculación/año; a cada fecha, se inocularon también entre 5 y 8 capítulos de plantas, en aquel estadio fenológico, de cada uno de los 2 testigos empleados. Cada capítulo fue inoculado una sola vez, mediante el asperjado de una suspensión acuosa conteniendo unas 25.000

ascosporas de *S. sclerotiorum*, generadas desde esclerocios colectados en girasoles infectados naturalmente el año anterior a cada ensayo. Desde los 14 días posteriores a su inoculación, los capítulos se revisaron 2 veces/semana. Al detectarse la enfermedad, los capítulos fueron examinados cada 7 días hasta madurez fisiológica.

En cada evaluación, se registró la fecha y severidad de síntomas (i.e. cociente entre el área del capítulo con PBC y superficie total del mismo). Para cada capítulo enfermo se estimaron: 1) el periodo de incubación relativo-PIR (i.e. relación entre la cantidad de días desde la inoculación hasta la detección del primer síntoma, es decir el período de incubación-PI, y el PI promedio de los 2 testigos inoculados el mismo día); 2) el crecimiento diario relativo de la lesión-CLR (i.e. razón entre el coeficiente de regresión lineal simple del avance por día de la severidad, desde que se detectó el primer síntoma hasta el arribo de la severidad máxima, y el promedio de los coeficientes estimados en los 2 testigos inoculados el mismo día).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y GENÉTICOS

Para ambas variables (PIR, CLR) se ajustó, tal lo detallado en Delgado et al. (2020), un modelo lineal con efectos aleatorios, como sigue:

$$y_{ijks} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \beta_{k(j)} + (\alpha\gamma)_{ij} + \varepsilon_{ijk} + \delta_{ijks}$$

Dónde:

y_{ijks} : es el valor de la variable que corresponde al cultivar i , en el año j , en el bloque k dentro del año j y la planta s ; μ : es la media general de la variable respuesta; α_i : es el efecto aleatorio del cultivar i ; γ_j : es el efecto aleatorio del año j ; $\beta_{k(j)}$: es el efecto aleatorio del bloque k dentro del año j ; $(\alpha\gamma)_{ij}$: es el efecto aleatorio de la interacción entre el año j y el cultivar i ; ε_{ijk} : es el error aleatorio correspondiente a la parcela ijk ; δ_{ijks} : es el error aleatorio correspondiente a la observación $ijks$ (entre plantas o intra parcelario). Se asumió que α_i están idénticamente distribuidos, independientes (ii) $\sim N(0, \sigma^2_g)$, $\gamma_j \sim ii N(0, \sigma^2_a)$, $\beta_{k(j)} \sim ii N(0, \sigma^2_{b(a)})$, $(\alpha\gamma)_{ij} \sim ii N(0, \sigma^2_{ga})$, $\varepsilon_{ijk} \sim ii N(0, \sigma^2)$, $\delta_{ijks} \sim ii N(0, \sigma^2_s)$ e independiente entre ellos.

Debido a que los residuales de dichos modelos mostraron una marcada asimetría, las variables PIR y CLR se transformaron (PIRt y CLRt, respectivamente) mediante la técnica propuesta por Box & Cox (1964). La fórmula de la transformación fue la siguiente:

$$Y_t = (Y^\lambda - 1)/\lambda$$

Dónde:

Y_t : es el valor de la variable luego de ser transformada; Y : es el valor de la variable sin transformar; λ : es el parámetro de transformación empleado [con valores de: $\lambda=0,5$ (PIR) y $\lambda=0,25$ (CLR)]. Los modelos estadísticos se ajustaron con la función "lmer" de la librería lme4 (Bates & Maechler, 2010) con el programa R (R Core Team, 2013).

Los valores de BLUPs, habiendo empleado todos los recursos disponibles (i.e. 3 años, 3 bloques, 12 pl/p) para medir PIR y CLR en cada híbrido, fueron provistos por Delgado et al. (2020). Dichos valores se estimaron como la diferencia de cada híbrido respecto a la media del conjunto de híbridos evaluados estandarizada al valor cero. Así, para PIRt, un BLUP>0 señaló un nivel de resistencia favorable en dicho híbrido. Mientras que, para CLRt, un nivel de resistencia semejante al anterior resultó de valores de BLUP<0. Para el presente artículo, se llevaron a cabo las comparaciones múltiples, a partir de la prueba de la diferencia mínima significativa-DMS ($\alpha=0,05$), a fin de detectar los comportamientos diferenciales entre híbridos buscados, según su BLUP.

Provistos los BLUPs obtenidos empleando los 3 años, 3 bloques y 12 pl/p, se estimó la Varianza Promedio de BLUPs (VarProBLUP) la cual, por ser análoga al cuadrado medio del error, fue un valor único. Luego se reestimaron esas VarProBLUPs involucrando 12 pl/p, para las 3 combinaciones año-bloque restantes. Después, se efectuaron los cálculos con una menor cantidad de plantas/parcela (entre 11 y 1) para las 4 combinaciones año-bloque. En ese marco y a fin de resolver cuáles de las 12 pl/p debían involucrarse en dichos cálculos, se llevaron a cabo remuestreos aleatorios del conjunto de datos. Es así como, en los casos en que la combinación de niveles lo permitió, se llegaron a hacer hasta 40 de

ellos. En la Tabla 1 se detalla, para su visualización, el número de remuestreos realizados para diferentes combinaciones año-bloque-pl/p.

TABLA 1
Cantidad de remuestreos realizados para diferentes combinaciones de niveles de recursos disponibles.

Años	Bloques	Plantas/p	Remuestreos
3	3	12	1
3	3	11 a 1	40
2	3	12	3
2	3	11 a 1	120
3	2	12	27
3	2	11 a 1	1080
2	2	12	27
2	2	11 a 1	1080

Se calcularon las probabilidades de obtener valores de $\text{VarProBLUP} < 0,0031$ (PIRt) y de $\text{VarProBLUP} < 0,0082$ (CLRt), con el fin de detectar diferencias entre híbridos de 0,22 y 0,25 unidades de BLUP para PIRt y CLRt, respectivamente. Ambos valores provinieron del proceso inverso de transformación de cada variable y se relacionaron al periodo sin síntomas después de la inoculación (PIRt) y a la tasa de crecimiento diario de la severidad de PBC (CLRt), respectivamente. Dichos valores fueron considerados como prefijados en todas las comparaciones de BLUPs realizadas, independientemente de la cantidad de recursos empleados para su estimación. Por último, se señalaron las combinaciones de recursos (nivel de años, bloques y pl/p) que permitieron detectar diferencias entre BLUPs.

RESULTADOS

CANTIDAD DE ENFERMEDAD MEDIDA Y EFECTO DE LAS FUENTES DE VARIACIÓN

Los resultados mostrados por Delgado et al. (2020) mostraron, primero, que la incidencia general de PBC fue de 84% lo que permitió cuantificar a PIR y CLR en, al menos, 30 plantas enfermas por año e híbrido. Y, luego, que durante el año 2011, se observaron los valores promedios máximos de PIR (1,07) y CLR (1,22), mientras que los mínimos fueron en 2012 (PIR=0,90 y CLR=0,85). Ante la ausencia de normalidad de los residuales se transformaron los datos y, luego, se realizó el ANAVA combinado a través de los años. Hubo efectos significativos ($p < 0,01$) para años, bloques/año, híbridos e interacción híbrido-año, tanto para PIRt como para CLRt.

COMPARACIONES MÚLTIPLES Y VALORES DE BLUPS DE LOS HÍBRIDOS

Los resultados del test de DMS generados, para este trabajo, desde los BLUPs estimados por Delgado et al (2020) utilizando la totalidad de recursos disponibles, se detallan en las Tablas 2 (PIRt) y 3 (CLRt).

Para PIRt, los híbridos con los BLUPs más elevados fueron los de valor genotípico más favorable (Tabla 2). Dichos híbridos fueron los que, tras la inoculación, mostraron un mayor período de tiempo sin síntomas respecto al promedio de los testigos. El valor máximo (0,16) fue para Paraíso 75 y hubo 17 híbridos cuyos BLUPs no se distinguieron del de Paraíso 75. El valor mínimo (-0,21) fue para ACA 885 y hubo 7 híbridos con BLUPs estadísticamente semejantes.

TABLA 2

Valores de BLUPs en los 37 híbridos de girasol y el test DMS para la variable PIRt. *Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$) entre BLUPs, según la prueba de DMS.

Híbridos	BLUP	DMS*
Paraiso 75	0,16	a
SPS 3109 RDM	0,14	ab
DM 220 AO	0,14	ab
Paraíso 27	0,12	abc
Paraíso 65	0,10	abc
Albisol2	0,09	abc
Paraíso 22	0,08	abc
Macon	0,08	abc
GS 3190 RDM	0,07	abcd
Cauquén	0,06	abcde
Dekasol 3820	0,05	abcdef
Tehuelche CL	0,05	abcdef
Buck Surcoflor	0,05	abcdef
ACA884	0,05	abcdef
Paraíso 20	0,04	abcdefg
MG 60	0,03	abcdefgh
64A89	0,03	abcdefgh
KWS Baqueano	0,02	abcdefghi
Agrobel 963	0,02	bcdefghi
Pan 7031	0,01	bcdefghi
Dekasol Oil Plus 3845	-0,01	cdefghij
CF 31	-0,02	cdefghij
MG 2	-0,02	cdefghij
DM 230	-0,02	cdefghij
VDH 487	-0,06	defghij
Albisol20 CL	-0,06	defghij
HS-03	-0,07	defghij
NK 70	-0,07	efghij
HO25AO Exp.	-0,07	efghij
Pampero DM	-0,08	fghijk
65A25	-0,09	ghijk
NTO 3.0	-0,09	ghijk
Paihuén	-0,10	hijk
ACA 886 DM	-0,11	ijk
Tobsol3004	-0,14	jk
ACA 863	-0,15	jk
ACA 885	-0,21	k

Para CLRt, a diferencia de PIRt, los híbridos con valores de BLUPs más bajos fueron los de valor genotípico más favorable (Tabla 3). Así, en relación al testigo promedio, dichos híbridos registraron tasas diarias menores de crecimiento de PBC, hasta el registro de la severidad máxima. El valor mínimo (-0,211) fue para DM 230 y hubo 20 híbridos cuyos BLUPs no se diferenciaron de dicho valor. El valor máximo (0,181) fue para Buck Surcoflor y fueron 22 los híbridos con sus BLUPs estadísticamente semejantes. Se detectaron 7 híbridos cuyos BLUPs no se distinguieron del valor máximo y del mínimo.

VARIABILIDAD PROMEDIO DE BLUPS Y LA PROBABILIDAD DE QUE DICHO VALOR SEA MENOR O IGUAL AL DE REFERENCIA, SEGÚN LOS RECURSOS EMPLEADOS PARA SU ESTIMACIÓN

Los valores estimados de VarProBLUP y la probabilidad de encontrar valores menores o iguales al de referencia para dicha varianza se muestran, en Tablas 4 (PIRt) y 5 (CLRt), para las distintas combinaciones de niveles de año-bloque-pl/p.

TABLA 3

Valores de BLUPs en los 37 híbridos de girasol y el test DMS para la variable CLRt. *Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$) entre BLUPs, según la prueba de DMS.

Cultivar	BLUP	DMS*
DM 230	-0,211	a
ACA 886 DM	-0,158	a
GS 3190 RDM	-0,150	ab
Pampero DM	-0,140	ab
Paihuén	-0,122	abc
64A89	-0,120	abc
ACA 884	-0,119	abc
MG 2	-0,062	abcd
Pan 7031	-0,061	abcd
Paraíso 75	-0,060	abcde
Dekasol 3820	-0,059	abcde
Paraíso 22	-0,047	abcde
Agrobel 963	-0,046	abcde
MG 60	-0,045	abcde
SPS 3109 RDM	-0,041	abcdef
Cauquén	-0,038	abcdef
KWS Baqueano	-0,034	abcdef
ACA 885	-0,028	abcdef
Paraíso 65	-0,014	abcdef
Paraíso 20	-0,002	abcdef
VDH 487	0,009	abcdef
HO25AO Exp.	0,026	bcdef
Tobsol 3004	0,032	bcdef
HS-03	0,035	bcdef
Albisol 2	0,040	bcdef
NK 70	0,041	bcdef
NTO 3.0	0,057	bcdef
CF 31	0,066	bcdef
Albisol 20 CL	0,099	cdef
Macon	0,108	def
Paraíso 27	0,109	def
ACA 863	0,128	def
Dekasol Oil Plus 3845	0,141	def
65A25	0,142	def
Tehuelche CL	0,166	ef
DM 220 AO	0,179	ef
Buck Surcoflor	0,181	f

Al considerar PIRt, para una diferencia entre híbridos superior a 0,22, la VarProBLUP mínima ($2,5 \times 10^{-3}$) se obtuvo con la totalidad de recursos (i.e. 3 años, 3 bloques, 12 pl/p), es decir 108 pl/h, aunque también con 99 y 90 pl/h (Tabla 4). Mientras que, la máxima ($5,7 \times 10^{-3}$) se generó con 4 pl/h, es decir el nivel mínimo de combinación de recursos en este experimento (i.e. 2 años, 2 bloques, 1 pl/p). Las VarProBLUP se incrementaron a medida que se redujo la cantidad de plantas/parcela involucradas en el cálculo para las cuatro combinaciones de nivel año-bloque empleadas. Sólo los cálculos empleando entre 12 y 5 pl/p, para la combinación 3 años y 3 bloques, generaron valores de $\text{VarProBLUP} \leq 3,1 \times 10^{-3}$ ($P < 0,05$), o sea favorables.

TABLA 4

Varianzas promedio de BLUP y probabilidad de que sean menores o iguales al valor de referencia ($3,1 \times 10^{-3}$) para distintos niveles de recursos empleados al considerar PIRt. Nota: A= años; B= bloques; pl/p= plantas por parcela; pl/h= plantas totales por híbrido; VarProBLUP= varianza promedio de los subconjuntos de datos generados en cada combinación (excepto para $3 \times 3 \times 12$, que es un solo valor); P= probabilidad de éxito de que la $\text{VarProBLUP} \leq 3,1 \times 10^{-3}$.

A	B	pl/p	pl/h	VarProBLUP ($\times 10^{-3}$)	P	A	B	pl/p	pl/h	VarProBLUP ($\times 10^{-3}$)	P
3	3	12	108	2,5	1	2	3	12	72	3,3	0,33
3	3	11	99	2,5	1	2	3	11	66	3,3	0,33
3	3	10	90	2,5	1	2	3	10	60	3,3	0,33
3	3	9	81	2,6	1	2	3	9	54	3,4	0,33
3	3	8	72	2,6	1	2	3	8	48	3,4	0,26
3	3	7	63	2,6	1	2	3	7	42	3,5	0,16
3	3	6	54	2,8	1	2	3	6	36	3,5	0,20
3	3	5	45	2,8	1	2	3	5	30	3,7	0,13
3	3	4	36	3,0	0,78	2	3	4	24	3,8	0,07
3	3	3	27	3,2	0,35	2	3	3	18	4,0	0,04
3	3	2	18	3,7	0,03	2	3	2	12	4,7	0,02
3	3	1	9	4,6	0	2	3	1	6	5,3	0,06
3	2	12	72	2,8	0,89	2	2	12	48	3,6	0,19
3	2	11	66	2,8	0,89	2	2	11	44	3,6	0,15
3	2	10	60	2,8	0,88	2	2	10	40	3,6	0,13
3	2	9	54	2,9	0,84	2	2	9	36	3,7	0,12
3	2	8	48	2,9	0,78	2	2	8	32	3,7	0,11
3	2	7	42	3,0	0,66	2	2	7	28	3,8	0,09
3	2	6	36	3,1	0,55	2	2	6	24	3,9	0,08
3	2	5	30	3,2	0,37	2	2	5	20	4,1	0,06
3	2	4	24	3,4	0,21	2	2	4	16	4,3	0,04
3	2	3	18	3,7	0,05	2	2	3	12	4,6	0,04
3	2	2	12	4,2	0,01	2	2	2	8	5,1	0,05
3	2	1	6	5,1	0,04	2	2	1	4	5,7	0,14

En relación a CLRt, para una diferencia entre híbridos superior a 0,25, la VarProBLUP mínima ($6,4 \times 10^{-3}$) se obtuvo empleando 12 y 11 pl/p para la combinación de 2 años y 3 bloques, es decir con 72 y 66 pl/h, respectivamente (Tabla 5). Mientras que la máxima ($12,8 \times 10^{-3}$) la generó el empleo del nivel mínimo de recursos posibles del experimento (i.e. 2 años, 2 bloques, 1 pl/p), es decir 4 pl/h. Al igual que para PIRt, a medida que disminuyó la cantidad de plantas/parcela consideradas, la VarProBLUP aumentó, en general, en todas las combinaciones año-bloque. Los cálculos empleando, por un lado, entre 12 y 6 pl/p para 3 años y 3 bloques y, por el otro, entre 12 y 10 pl/p para 3 años y 2 bloques, generaron valores de $\text{VarProBLUP} \leq 8,2 \times 10^{-3}$ ($P < 0,05$), o sea favorables.

TABLA 5

Varianzas promedio de BLUP y probabilidad de que sean menores o iguales al valor de referencia ($8,2 \times 10^{-3}$) para distintos niveles de recursos empleados al considerar CLRt. Nota: A= años; B= bloques; pl/p= plantas por parcela; pl/h= plantas totales por híbrido; VarProBLUP= varianza promedio de los subconjuntos de datos generados en cada combinación (excepto para 3x3x12, que es un solo valor); P= probabilidad de éxito de que la VarProBLUP $\leq 8,2 \times 10^{-3}$.

A	B	pl/p	pl/h	VarProBLUP ($\times 10^{-3}$)	P	A	B	pl/p	pl/h	VarProBLUP ($\times 10^{-3}$)	P
3	3	12	108	6,6	1	2	3	12	72	6,4	0,67
3	3	11	99	6,6	1	2	3	11	66	6,4	0,67
3	3	10	90	6,7	1	2	3	10	60	6,6	0,67
3	3	9	81	6,8	1	2	3	9	54	6,7	0,67
3	3	8	72	6,9	1	2	3	8	48	6,6	0,65
3	3	7	63	7,0	1	2	3	7	42	7,1	0,58
3	3	6	54	7,2	0,98	2	3	6	36	7,0	0,50
3	3	5	45	7,6	0,88	2	3	5	30	7,1	0,48
3	3	4	36	8,0	0,55	2	3	4	24	7,7	0,41
3	3	3	27	8,7	0,25	2	3	3	18	8,4	0,35
3	3	2	18	9,5	0,20	2	3	2	12	9,9	0,32
3	3	1	9	12,0	0,25	2	3	1	6	12,0	0,31
3	2	12	72	7,0	1	2	2	12	48	7,0	0,63
3	2	11	66	7,1	0,99	2	2	11	44	7,0	0,59
3	2	10	60	7,1	0,96	2	2	10	40	7,0	0,58
3	2	9	54	7,2	0,93	2	2	9	36	7,3	0,52
3	2	8	48	7,4	0,87	2	2	8	32	7,4	0,45
3	2	7	42	7,5	0,76	2	2	7	28	7,6	0,41
3	2	6	36	7,7	0,64	2	2	6	24	7,8	0,41
3	2	5	30	8,1	0,48	2	2	5	20	8,2	0,37
3	2	4	24	8,5	0,35	2	2	4	16	9,0	0,34
3	2	3	18	9,2	0,29	2	2	3	12	9,5	0,35
3	2	2	12	10,2	0,26	2	2	2	8	10,8	0,33
3	2	1	6	11,7	0,30	2	2	1	4	12,8	0,40

DISCUSIÓN

Los análisis realizados por Delgado et al. (2020) mostraron, por un lado, una mayor contribución relativa a la varianza fenotípica, del conjunto de genes (i.e. genotipo) que controlan el nivel de resistencia parcial a la PBC en el girasol, en relación a otros trabajos realizados hasta ese momento. Y, por el otro, un efecto significativo de la fuente de variación debida a los híbridos. Esos resultados, además de poner en evidencia una mayor correspondencia fenotipo-genotipo y la consecuente posibilidad de incrementar la eficiencia de selección de los genotipos de interés a través de las observaciones en el campo, propiciaron, en el presente artículo, a la diferenciación de los híbridos evaluados, mediante el test DMS, de acuerdo a sus BLUPs.

Debe destacarse que el empleo de los BLUPs surgió por asumir como aleatorios a todos los efectos involucrados en el modelo lineal considerado. Así como porque la bibliografía mostraba que era una práctica que había sido empleada con éxito para detectar materiales genéticos cuyos BLUPs sugerían

performances de interés (Bermejo et al., 2019; Biasutti et al., 2014; Cazzola et al., 2019). Así el señalamiento de, en nuestro caso, híbridos con comportamiento favorable sería más confiable visto que, según estos últimos autores, el valor predictivo del BLUP es independiente del ambiente y de la interacción genotipo-ambiente, ambos con efectos significativos según Delgado et al (2020).

Para detectar comportamientos diferenciales de híbridos, se propuso que la divergencia entre BLUPs debía ser mayor a 0,22 y de 0,25 (valores prefijados para PIRt y CLRt, respectivamente). Dichos valores provinieron del siguiente razonamiento: se consideró deseable poder señalar híbridos cuyas respuestas fuesen, por lo menos y según la variable, un 25% superior o inferior al promedio de los testigos. Supongamos que los testigos tuvieron, en promedio, unos 30 días de período de incubación. En este contexto, los híbridos con un $PIR > 1,25$ serían aquellos cuyos síntomas de PBC aparecieron alrededor de una semana más tarde que en el testigo promedio. Mientras que con un $CLR < 0,75$, serían aquellos cuya tasa diaria de crecimiento de severidad de PBC fue 25% más lenta, también respecto a dichos testigos. Para PIR y CLR dichos valores resultan de importancia práctica porque están señalando a híbridos que, aunque enfermos, podrían arribar a la madurez con una severidad de PBC relativamente baja en sus capítulos.

El señalamiento de la madurez, como el estadio de crecimiento y desarrollo del girasol a tener en cuenta, no es un hecho fortuito. En efecto, la bibliografía indica que durante esa etapa fenológica, que se corresponde a los estadios R7-R8 (Schneiter et al., 2019) o M1-M2 (Martin-Monjaret, 2019), los granos del capítulo alcanzan su máximo peso seco (Hernández & Larsen, 2013). Asimismo, es alrededor de R8 (=M2) el estadio más apropiado para aplicar herbicidas desecantes sobre el cultivo, de acuerdo a colegas de la UIB (Pedraza et al., 2015). Dicha aplicación, además de no afectar el rendimiento, permite adelantar la cosecha y evitar que las pérdidas puedan ser totales, en primer lugar. Y, luego, reducir la propagación de la enfermedad porque habrá una menor cantidad de esclerocios (i.e. fuente de inóculo primario) para futuros cultivos. Si la mencionada aplicación se realiza sobre cultivos con plantas enfermas cuyos valores de PIR y/o CLR son favorables, habría una mayor cantidad y calidad de granos cosechados, respecto de aquellos cultivos de girasol con valores semejantes de PIR y/o CLR pero que no reciban pulverización alguna.

La contribución relativa de la fuente de variación no controlada del experimento, es decir el error, detectada por Delgado et al (2020), respecto de la varianza total de las observaciones fenotípicas realizadas (i.e. la suma de cuadrados totales) para calcular CLRt (75,50%) fue mayor que para PIRt (66,25%). Por lo que, esto bien pudo contribuir al oscurecimiento de los límites que separan a los híbridos de comportamiento favorable de los no favorable. En este sentido, a pesar que el rango de BLUPs para CLRt (0,392) fue levemente superior (i.e. 6%), del estimado para PIRt (0,37), en las Tablas 3 y 2, respectivamente, el valor mayor del error para CLRt generó un DMS (0,22) un 57% superior al de PIRt (0,14), con el mismo nivel de factores intervinientes en la ecuación que estimó la DMS. Esa magnitud mayor de varianza residual provocó que a aquellos 7 híbridos les fuera atribuido, consecuentemente, un comportamiento tanto favorable como no favorable (Tabla 3).

Se reestimaron los BLUPs de híbridos para PIRt y CLRt a medida que se redujeron gradualmente los niveles de recursos disponibles. Esto condujo a señalar qué combinación de años, bloques y pl/p, con un valor de VarProBLUP menor o igual al de referencia, permitía detectar comportamientos diferenciales de híbridos según los valores críticos para cada variable. Para PIRt los resultados indicaron que hubo 8 combinaciones, producto de emplear entre 12 y 5 pl/p para 3 años y 3 bloques, que detectaron diferencias entre híbridos mayores a 0,22 unidades ($p < 0,05$) cuando la $VarProBLUP \leq 0,0031$ (Tabla 4). Mientras que para CLRt fueron 7 las combinaciones favorables, resultantes de usar entre 12 y 6 pl/p, para todos los años y bloques disponibles, por un lado, y 3 por el empleo de entre 12 y 10 pl/p para 3 años y 2 bloques, por el otro. Estas 10 combinaciones, señalaron diferencias superiores a 0,25 entre híbridos ($p < 0,05$), con una $VarProBLUP \leq 0,0082$ (Tabla 5). El haber asignado una mayor variabilidad para el valor referencia de CLRt (0,0082) que para el de PIRt (0,0032), pudo propiciar la aparición de un número mayor de combinaciones con diferencias significativas entre híbridos para CLRt.

La alteración de los niveles de recursos disponibles, en el cálculo de los BLUPs, no tuvo el mismo efecto en ambas variables al señalar los comportamientos diferenciales. Consideremos, por un lado, a 48 plantas/híbrido como una cantidad común compartida por 3 de las 4 combinaciones año-bloque en el cálculo de las VarProBLUP. Y, por el otro, al resultado generado por la interpolación dentro del intervalo de valores conocidos de VarProBLUP entre 45 y 54 pl/h, para la cuarta combinación de 3 años y 3 bloques, dado la ausencia de aquella cantidad exacta de plantas/híbrido para esta última combinación. Para PIRt, la VarProBLUP estimada para 48 pl/h interpoladas (para 3 años y 3 bloques) fue de 0,0028. A

partir de esa base, pudo determinarse que, al disminuir un año la evaluación, el incremento de la VarProBLUP estimada (+0,0006, equivalente al 21,5%) fue mayor que si la reducción hubiese sido de un bloque (+0,0001, es decir un 3,6%). El aumento fue aún más importante (+0,0008, o sea el 28,6%) al reducir tanto un año como un bloque (Tabla 4). Para CLRt, la VarProBLUP estimada para 48 pl/h interpoladas fue 0,00747. Una modificación semejante a la realizada para PIRt, alteró también la VarProBLUP estimada, aunque en sentido contrario. En efecto, hubo una reducción de la VarProBLUP en 0,00087 unidades (13,2%) al disminuir un año, en 0,00007 unidades (0,94%) al reducir un bloque y en 0,00047 unidades (6,3%) al reducir dos años y dos bloques (Tabla 5). Debe tenerse en cuenta que, para una misma cantidad de plantas evaluadas por híbrido (48 pl/h), la reducción del número de años y/o de bloques al estimar la VarProBLUP implicó considerar una mayor cantidad de plantas/p. De esta manera, se pasó de 5/6 pl/p (3 años-3 bloques) a 8 pl/p (3 años-2 bloques, y 2 años-3 bloques), y a, finalmente, 12 pl/p (2 años-2 bloques). Por otro lado, debe destacarse que la variable PIR es cuantificada mediante cualquier valor mayor a cero habida cuenta que, por definición, describe el comportamiento de un capítulo enfermo, en las primeras etapas del ciclo de la PBC (Castaño & Giussani, 2009). Mientras que, por el contrario, en la etapas finales de dicho ciclo, la variable CLR puede contener valores de 0 (cero), como ocurrió en este experimento. Esto se debe a que no hubo progreso de la severidad, en dichos capítulos, respecto a lo detectado al momento de medir los primeros síntomas. De esta manera, la aparición de plantas/parcela con tasas nulas de CRL en determinados bloques y años, pudo haber colaborado en reducir la VarProBLUP de CLRt al momento de disminuir dichos recursos (i.e. años y bloques) para su estimación.

En definitiva, los resultados indicaron que los niveles mínimos de recursos a emplear para detectar comportamientos diferenciales no coincidieron para PIRt y CLRt. En efecto, mientras que para PIRt fueron 3 años, 3 bloques y 5 pl/p (Tabla 4), para CLRt dicha combinación año-bloque involucró, respecto a PIRt, una planta/p más, es decir 6 pl/p (Tabla 5). Esta variabilidad, en la cantidad mínima de plantas/híbrido (i.e. 45 pl/h para PIRt y 54 pl/h para CLRt), coincide con lo manifestado por Dinon et al (2019) quienes señalaron que, a fin de evaluar incidencia de PBC, el número óptimo de plantas a utilizar dependía del híbrido evaluado. A pesar de lo anterior, el hecho que, en el presente trabajo, se repita la misma cantidad de años y bloques permitiría llevar a cabo un sólo ensayo a fin de evaluar la performance de híbridos por ambos componentes de la resistencia parcial. De esta manera se podría evitar el empleo de hasta la mitad de los recursos (que se disponían al inicio de este experimento) en la detección de comportamientos diferenciales, lo cual ayudará, por tanto, a adecuar su uso eficientemente durante la mejora genética del girasol por su nivel de resistencia a la PBC.

CONCLUSIONES

Se detectaron comportamientos diferenciales de los híbridos de girasol, a través de sus BLUPs, para PIRt y CLRt, tanto para el nivel máximo de recursos disponibles para este experimento (i.e. 108 pl/h, producto del empleo de datos de 3 años, 3 bloques y 12 pl/p), como para otras combinaciones involucrando niveles menores de dichos factores. El uso de 45 y 54 pl/h al considerar PIRt y CLRt, respectivamente, en los ensayos en el campo permitieron señalar todavía diferencias entre BLUPs de híbridos sin incrementar significativamente la variabilidad debida al error. El hecho que la combinación señalada de 3 años y 3 bloques coincida en la valoración de ambas variables, respecto de la cantidad mínima de recursos empleados, posibilitará que la evaluación involucrando 6 pl/p permita caracterizar PIRt y CLRt en un solo experimento.

Agradecimientos

Los resultados presentados son parte de la tesis de Magister en Producción Vegetal, orientación Mejoramiento Genético, presentada por Santiago G. Delgado en la Facultad de Ciencias Agrarias-UNMdP. Los autores extienden su agradecimiento a los Sres. Silvio Giuliano y Carlos Antonelli por su gran predisposición y colaboración en la preparación, siembra, mantenimiento y riego de los ensayos.

BIBLIOGRAFÍA

- Agüero, E., Pereyra, V., Laich, F. y Escande, A.** (12-17 de octubre 1997). Efecto de la incidencia de podredumbre húmeda del capítulo de girasol (*Sclerotinia sclerotiorum*) sobre el rendimiento en grano y calidad comercial. *Actas del IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. (p. 217), Montevideo, Uruguay.
- Agüero, E., Escande, A. y Pereyra, V.** (2001). Efecto de la pudrición húmeda del capítulo de girasol (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) sobre el contenido de impurezas del producto cosechado, el rendimiento del aceite y la acidez del aceite. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 85, 177-186. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v85i3-4.3071>.
- Bates, D. y Maechler, M.** (2010). *lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and Eigenfaces*. R package version 0.999375-36/r1083. Recuperado en noviembre de 2022 de <http://R-Forge.R-project.org>.
- Bermejo, C., Cazzola, F., Maglia, F. y Cointry, E.** (2019). Selection of parents and estimation of genetic parameters using BLUP and molecular methods for lentil (*Lens culinaris* Medik.) breeding program in Argentina. *Experimental Agriculture*, 56, 12-25. <https://doi.org/10.1017/S0014479719000061>.
- Biasutti, C., Balzarini, M., de la Torre, M. y Nazar, M.** (2014). Selección de híbridos superiores de maíz a partir de ensayos comparativos de rendimiento. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 25 (Suppl. 1), 196.
- Box, G. y Cox, D.** (1964). An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 26, 211–252. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1964.tb00553.x>
- Castaño, F.** (2018). The sunflower crop in Argentina: past, present and potential future. *OCL*, 25, D105. <https://doi.org/10.1051/ocl/2017043>
- Castaño, F. y Giussani** (2006). Variability of daily growth of white rot in sunflowers [*Helianthus annuus* L.; Argentina]. *Journal of Genetics and Breeding*, 60, 67-70.
- Castaño, F. y Giussani, A.** (2009). Effectiveness of components of partial resistance in assessing white rot of sunflower head. *Helia*, 32, 58-68. <https://doi.org/10.2298/hel0950059c>
- Cazzola, F., Maglia, F., Guindón, F. y Bermejo, C.** (2019). Selección de progenitores para planes de cruzamiento en arveja (*Pisum sativum* L.) y estimación de parámetros genéticos mediante el uso de blup. *Ciencias Agronómicas*, 33, 7-12.
- Delgado, S., Castaño, F., Cendoya, G., Salaberry, T. y Quiróz, F.** (2020). Analysis of genetic determination of partial resistance to white rot in sunflower. *Helia*, 43, 1-14. <https://doi.org/10.1515/helia-2020-0009>.
- Dinon, A., Delgado, S. y Castaño, F.** (2019). Tamaño óptimo de parcela e incidencia de la podredumbre blanca del capítulo del girasol en el sudeste bonaerense. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 118, 37-44. <https://doi.org/10.24215/16699513e005>
- Di Yenno, F. y Calzada, J.** (2022). Commodities. Balance regional de girasol 2021/22. *Bolsa de Comercio de Rosario, Especial Campaña de Girasol 2021/22, N° Edición 2035*. <https://www.bcr.com.ar>
- Fehr, W.** (1991). *Principles of cultivar development. Theory and technique*. Agronomy Book 1. New York, Ed. Macmillan Pub. Co.
- Godoy, M., Castaño, F., Ré, J. y Rodríguez, R.** (2005). *Sclerotinia* resistance in sunflower: I Genotypic variations of hybrids in three environments of Argentina. *Euphytica*, 145, 147-154. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-0627-2>
- Godoy, M., Castaño, F., Ré, J. y Rodríguez, R.** (2012). *Sclerotinia* resistance in sunflower. II. Combining ability and midparent heterosis for reaction to ascospore infections at flowering. *Euphytica*, 188, 299-307. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0749-2>
- Gulya, T., Rashid, K. y Masirevic, S.** (1997). Sunflower diseases. En: A. Schneiter (Ed.), *Sunflower Technology and Production, Agronomy Monographs*. (pp. 263-379) ASA, CSSA, SSSA, Madison. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr35.c6>
- Gulya, T., Vick, B. y Nelson, B.** (1986). *Sclerotinia* head rot of sunflower in North Dakota: 1986 incidence, effect on yield and oil components, and sources of resistance. *Plant Disease*, 73, 504–507 <https://doi.org/10.1094/PD-73-0504>
- Hernández, L. y Larsen, A.** (2013). Visual definition of physiological maturity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) is associated with receptacle quantitative color parameters. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2, 447-454. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013112-3645>

- López, M.** (2022). Proyecciones de superficie y producción de la campaña 22-23: escenario nacional y regional. *Bolsa de Cereales, Lanzamiento de campaña gruesa 22-23*. <https://www.bolsadecereales.com>.
- Martin-Monjaret, C.** (2019). *Les stades repères du tournesol*. Recuperado en noviembre de 2022 de: <https://www.terresinovia.fr>
- Pedraza, V., Pereyra, V. y Escande, A.** (2015). Alternativa para disminuir la producción de esclerocios en girasol afectado por podredumbre húmeda del capítulo. <https://www.agrositio.com.ar>.
- R Core Team** (2013). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
- Robinson, G.** (1991). That BLUP is a good thing: the estimation of random effects. *Statistical science*, 6, 15-32. <https://doi.org/10.1214/ss/1177011926>
- Schneider, A., Miller, J. y Berglund, J.** (2019). Stages of sunflower development. NDSU. <https://www.ndsu.edu/>.
- SENASA** (1994). Norma de Calidad para ser Aplicada en la Comercialización del Girasol Mercado Interno, Exportación e Importación (Resolución nº 1075/ ANEXO IX) <https://www.senasa.gob.ar>.
- Vear, F. y Tourvieille, D.** (1984). Recurrent selection for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflowers using artificial infections. *Agronomie*, 4, 789-794. <https://doi.org/10.1051/agro:19840811>.
- Vear, F. y Tourvieille, D.** (1988). Heredity of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflowers. II. Study of capitulum resistance to natural and artificial ascospore infections. *Agronomie*, 8, 503–508. <https://doi.org/10.1051/agro:19880604>