



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

**EVALUACIÓN DE UN DISEÑO EN
LATTICE SQUARE COMO ALTERNATIVA
A LOS MÉTODOS ACTUALES EN LA
MEJORA DE LÍNEAS DE ARROZ**

Luis Marqués Falcó

Tesis Doctoral dirigida por:

Dr. José M^a Osca Lluch

Julio 2015



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

EVALUACIÓN DE UN DISEÑO EN LATTICE SQUARE COMO ALTERNATIVA A LOS MÉTODOS ACTUALES EN LA MEJORA DE LÍNEAS DE ARROZ

Tesis Doctoral de **Luis Marqués Falcó** para optar al título de doctor en Producción
Vegetal

Director de la Tesis:
Dr. José M^a Osca Lluch

Programa de doctorado de Producción Vegetal y Ecosistemas Agroforestales

Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia

Julio 2015

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a mi director de tesis, el cual me ha acompañado en mi formación agrícola desde los inicios en la Escuela de Ingenieros Técnicos Agrícolas hasta llegar al punto en que me encuentro. Hemos compartido muchos momentos en los que, gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación, he logrado importantes objetivos.

También quiero dar las gracias a la profesora D^a Susana Barceló por sus indicaciones en la elaboración de los estudios estadísticos realizados. También a todos aquellos colegas que, durante todos estos años, han puesto su granito de arena en las sucesivas discusiones mantenidas sobre el tema.

No puedo olvidar el apoyo obtenido desde mi lugar de trabajo en la Cooperativa de Productores de Semillas de Arroz. Al Consejo Rector por haber confiado en mis ideas y haber apoyado las propuestas realizadas. A mis compañeros por haber colaborado con ideas y apoyo humano suficiente para que se pudieran alcanzar las conclusiones finales.

A mis padres, quienes se tomaron el arduo trabajo de transmitirme su amor por el campo. Además de eso, han sido quienes me han ofrecido sabios conocimientos para lograr mis metas en la vida.

Po último, a mi esposa y mis hijos, por el tiempo robado para la realización de esta tesis, y por la paciencia y apoyo demostrado durante los momentos de incertidumbre y flaqueza.

RESUMEN

El criterio básico para la elección de un diseño de selección debe ser su capacidad para poder efectuar un muestreo efectivo dentro de unas condiciones ambientales heterogéneas.

La evaluación y selección en condiciones de cultivo aisladas entre plantas permite la optimización de la heredabilidad para caracteres cuantitativos.

El presente trabajo trata de validar un nuevo diseño de campo para la selección de nuevas variedades de arroz en lattice square y con un marco de plantación de 0,5 x 0,5 m entre plantas, frente al diseño usualmente utilizado de bloques al azar, con marco de plantación similar a las condiciones normales de cultivo. Se utilizó una población de dobles haploides, derivada de un cruzamiento entre las variedades *Benisants* y *Gigante Vercelli*.

La población de partida fue analizada genéticamente mediante un análisis DaRT que proporcionó 465 SNPs entre los dos progenitores, y que permitió su clasificación mediante un dendograma.

Se realizó un ensayo principal durante dos años consecutivos en la zona de Valencia con la población total, donde se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la caracterización fenotípica de las líneas. Estas diferencias significativas se mantuvieron, incluso disminuyendo en un 66 % el número de repeticiones utilizadas.

El estudio de las Correlaciones entre todas las variables relacionadas con el Rendimiento en Grano mostró que este aumenta con el Peso Total de

la planta y sus caracteres asociados: Número de tallos y Número de granos por panícula.

El Análisis de Componentes Principales relacionó el Rendimiento en Grano fundamentalmente con el Número de Tallos por planta.

El Dendograma realizado con los datos fenológicos de campo obtenidos clasificó 4 grupos de líneas de ensayo, relacionados con la expresión gráfica de los Componentes Principales y la clasificación genética efectuada a partir del análisis DaRT.

En el ensayo comparativo realizado entre el diseño propuesto y un diseño en bloques al azar con una serie de líneas seleccionadas, el diseño en lattice obtuvo un Coeficiente de Variación del 9,8 % frente al 14,1 % del ensayo en bloques. Además, el número de plantas utilizado en el ensayo en lattice fue un 94 % inferior con el consiguiente ahorro económico en la evaluación de líneas de mejora.

SUMMARY

Ability for doing an effective sampling is the best characteristic to choose a field breeding design. Quantitative characters are highest inheritable when plants are cultivated in isolation conditions in fields.

This work try to validate a field design for rice breeding which combines lattice design with isolation conditions.

It has been used a rice double haploid (DH) population obtained from the cross between the rice varieties *Benisants* and *Gigante Vercelli*. DaRT analysis was done to obtain 465 SNPs between the two parents. DH lines, both parents and a reference variety, *Gleva*, were studied in two field trials. Phenotypic differences were statistically significant, even with a 66 % of repeats decrease.

The association of all morphological traits was estimated by phenotypic Correlation Coefficient and showed positive relation between Total Weight of plant, Tiller Number and Total Number of grains per panicle with Grain Weight.

The results of Principal Components Analysis were closely in line with Correlation Analysis.

Cluster Analysis classified the totally of the lines into four distinct groups. Similar results were obtained in the DaRT representation.

Six lines, both parents and the reference variety were analyzed with Lattice Design and Randomized Complete Block Design (RCBD). Coefficient of Variation of lattice design is 9,8 % while that of RCBD is 14,1 %, which proves the best efficiency of Lattice design.

Also, Lattice design is more economical, using a 94 % less plants front RCBD.

RESUM

El criteri bàsic per a la elecció d'un disseny de selecció deu de ser la seua capacitat per a poder fer un mostreig efectiu dins d'unes condicions ambientals heterogènies. La evaluació i selecció en condicions de cultiu aïllades entre plantes permet la optimització de la heretabilitat per a caràcters quantitativs.

El present treball trata de validar un nou disseny de camp per a la selecció de noves varietats d'arròs en Lattice Square i amb un marc de plantació similar a les condicions normals de cultiu. Es va utilitzar una població de línies doble haploides, derivada de un creuament entre les varietats *Benisants* i *Gigante Vercelli*. A més, una varietat de referència de la zona de València, *Gleva*, es va cultivar als assajos.

La població de partida va ser analitzada genèticament mitjançant un anàlisi DaRT que va donar 465 SNPs entre els dos progenitors, y que va permetre la seua classificació mitjançant un dendograma.

Es va realitzar un assaig principal duran dos anys consecutius en la zona de València amb la població total, on s'obtingueren diferències estadísticament significatives en la caracterització fenotípica de les línies. Aquestes diferències significatives es mantingueren, inclús disminuint en un 66 % el número de repeticions utilitzades.

El estudi de les Correlacions entre totes les variables relacionades amb el Rendiment en Gra va mostrar que aquest augmenta amb el Pes Total de la planta y els seus caràcters associats: Número de tiges i Número de grans per panícula.

El Anàlisi de Components Principals va relacionar el Rendiment en Gra fundamentalment amb el Número de Tiges per planta.

El Dendograma realitzat amb els datos fenològics de camp obtinguts va classificar quatre grups de línies de assaig, relacionades amb la expressió gràfica del Components Principals y la classificació genètica efectuada a partir del anàlisi DaRt.

A l'assaig comparatiu realitzat entre el disseny proposat i un disseny en Blocs Complets a l'Atzar amb una sis línies DH, els dos parentals y la varietat de referència, el disseny en Lattice va obtindre un Coeficient de Variació del 9,8 % front al 14,1 % de l'assaig en Blocs. A més, el número de plantes utilitzat a l'assaig en Lattice va ser un 94 % inferior amb el consegüent estalvi econòmic a la evaluació de línies de millora.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PANORAMA MUNDIAL DEL ARROZ.....	2
1.2. DESCRIPCION BOTANICA.....	6
1.2.1. Las raíces.....	6
1.2.2. El ahijamiento y los tallos.....	7
1.2.3. La hoja.....	10
1.2.4. La panícula.....	10
1.2.5. La flor o espiguilla	11
1.2.5.1. La floración y la fecundación.....	12
1.2.6. La semilla y la cariósida.....	13
1.3. VARIEDADES DE ARROZ	16
1.4. ECOLOGIA DEL ARROZ.....	17
1.4.1. La luz.....	18
1.4.2. La temperatura	19
1.4.3. El agua.....	21
1.4.4. El suelo.....	22
1.5. OPERACIONES DE CULTIVO	24
1.5.1. La preparación del terreno	24
1.5.2. Calendario de las operaciones de cultivo	28
1.6. FERTILIZACION DEL ARROZ	28
1.6.1 El abonado nitrógeno	29
1.6.2. El abonado fosforado	32

1.6.3. El abonado potásico	34
1.6.4. Los elementos secundarios y los microelementos	35
1.7. MANEJO DEL AGUA	36
1.8. SIEMBRA, RECOLECCION Y SECADO DEL ARROZ CASCARA	39
1.8.1. Siembra	39
1.8.2. Recolección y secado	41
1.9. ACCIDENTES, PLAGAS, ENFERMEDADES Y MALAS HIERBAS DEL ARROZAL	42
1.10. MEJORA GENÉTICA.....	45
1.10.1. MEJORA GENÉTICA DEL ARROZ	58
1.10.1.1. LÍNEAS DOBLE HAPLOIDES	59
1.10.1.2. RECURSOS FITOGENÉTICOS	66
1.10.1.3. OBJETIVOS DE LA MEJORA.....	67
1.10.2. MÉTODOS DE MEJORA DE ARROZ	84
1.10.2.1. Métodos clásicos	84
1.10.2.2. Herramientas biotecnológicas	86
1.10.2.3. Marcadores moleculares y genómica.....	88
2. OBJETIVOS	92
3. MATERIALES Y MÉTODOS	96
3.1. MATERIAL VEGETAL.....	98
3.2. DISEÑO DEL ENSAYO	100
4. RESULTADOS.....	110
4.1. OBTENCIÓN DE LA SUBPOBLACIÓN PARA ANÁLISIS DE COMPONENTES DEL RENDIMIENTO	113
4.2. EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE LA POBLACIÓN COMPLETA	116

4.2.1. ALTURA AL NUDO PRINCIPAL	121
4.2.2. LONGITUD DE LA PANÍCULA PRINCIPAL	122
4.2.3. NÚMERO DE PANÍCULAS POR PLANTA	123
4.2.4. PESO DE GRANO POR PLANTA.....	123
4.2.5. PESO TOTAL DE LA PLANTA	125
4.2.6. INDICE DE COSECHA	125
4.2.7. DÍAS A 50 % ESPIGADO	126
4.2.8. PESO DE 100 SEMILLAS	127
4.2.9. NÚMERO MEDIO TOTAL DE GRANOS POR PANÍCULA – ...	128
4.2.10. PORCENTAJE MEDIO DE GRANOS LLENOS POR PANÍCULA	129
4.2.11. NECROSIS EN EL NUDO DE LA PANÍCULA.....	130
4.3. COMPARACIÓN DE LOS VALORES ESTADÍSTICOS ENTRE DISEÑO BALANCEADO Y DISEÑO NO BALANCEADO.....	135
4.4. DETERMINACIÓN DE LA LÍNEA DE ENSAYO CON MAYOR RENDIMIENTO EN GRANO POR PLANTA	141
4.5. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES ÚTILES PARA LA SELECCIÓN INDIRECTA DEL RENDIMIENTO EN GRANO	153
4.5.1. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE VARIABLES ..	153
4.5.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	155
4.5.3. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS	163
4.5.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN MULTIPLE	164
4.6. COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN DISEÑO EN LATTICE SQUARE FRENTE A UN ENSAYO EN BLOQUES COMPLETOS AL AZAR.....	167
5. CONCLUSIONES	174

6. BIBLIOGRAFÍA	177
7. ANEJOS.....	205

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PANORAMA MUNDIAL DEL ARROZ

En una leyenda balinesa, el señor Vishnu, dios masculino de la fertilidad y el agua, vino a la tierra a proporcionar mejores alimentos a la gente que solo tenía jugo de caña de azúcar para comer. Vishnu hizo que la Madre Tierra diera a luz al arroz, y entonces peleó con Indra, señor de los cielos para forzarlo a que enseñara a los hombres a cultivar arroz. En esta forma, el arroz, fuente de vida y riqueza y obsequio de los dioses, nació de la unión de las fuerzas divinas de la creación representada por la tierra y el agua.

Casi todas estas creencias y costumbres han cambiado con los años, pero el arroz continua siendo "la vida misma" para la mayoría de las regiones densamente pobladas del mundo.

El arroz (*Oryza sativa* y *Oryza glaberrima*) es un cereal de primordial importancia para la alimentación humana, a la que se dedica el 95% de la producción, siendo básico en la dieta de más de la mitad de la población mundial, especialmente en países subdesarrollados o en vías de desarrollo.

Su origen se sitúa en Asia, probablemente en la India, hace más de 10.000 años, si bien fue en China donde comenzó su cultivo y domesticación. De Asia pasó a Europa oriental sobre el año 800 A. C., llegando a España con la invasión musulmana y difundándose desde aquí a la Europa mediterránea y más tarde al continente americano.

La superficie mundial del arroz alcanza unos 180 millones de hectáreas, de las que un 90% se sitúa en Asia, con una producción de arroz cáscara de unos 696 millones de toneladas en el año 2010 (equivalente a 450 millones de arroz blanco), superando en producción al trigo (650) y ligeramente por debajo

del maíz (800). Existen 111 países productores de arroz en el mundo, estos incluyen todos los países asiáticos, casi todos los países de África del Norte y Occidental, algunos de África Central y Oriental , la mayoría de los países de América Central y América del Sur, Australia, por lo menos cuatro estados de los Estados Unidos de Norteamérica, y varios países europeos, entre ellos, Italia, España, Portugal y Francia. (Rice Almanac, 4th ed., 2013).

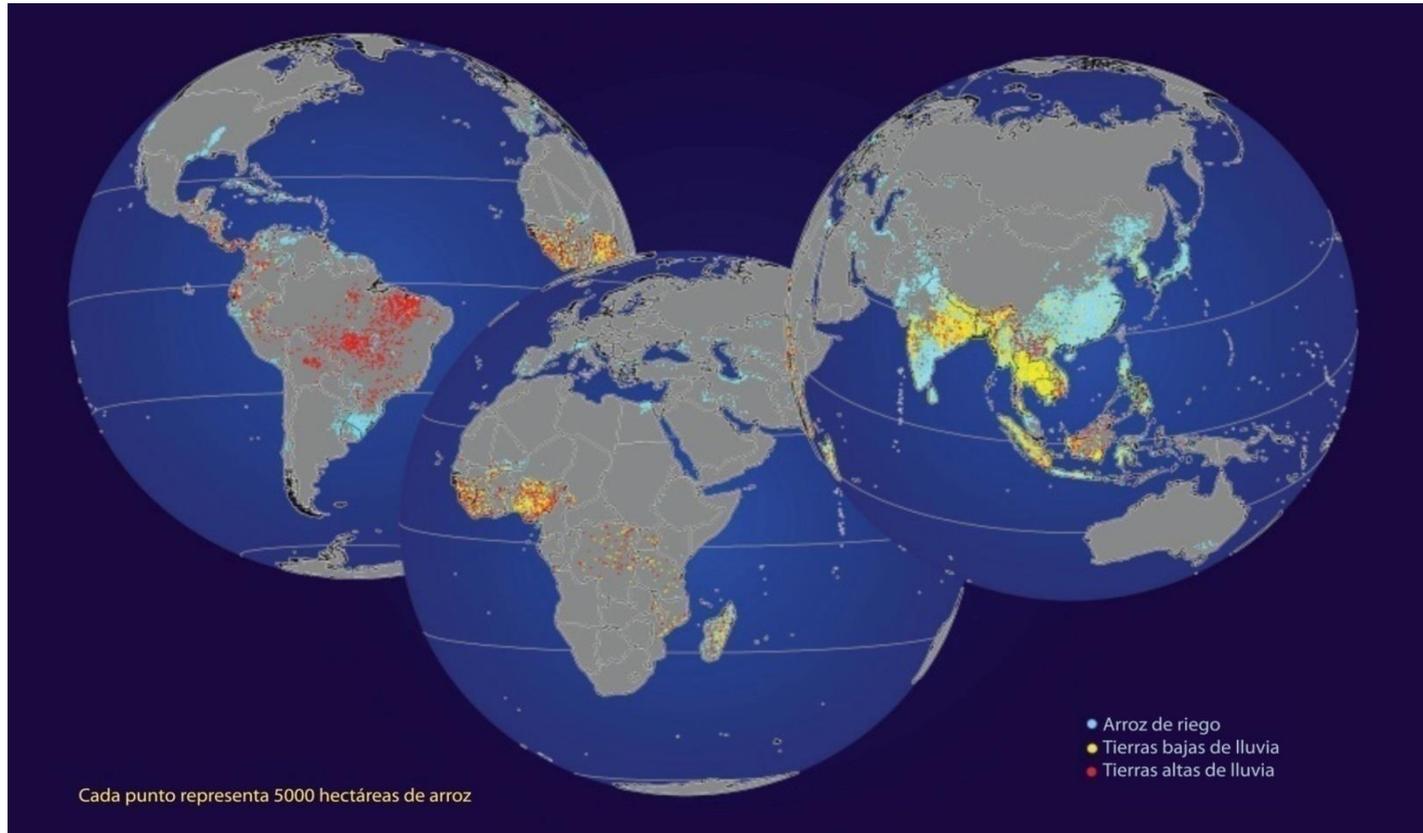


Figura 1. Superficies de arroz cultivado según tipo de cultivo.

En la Unión Europea se dedican al arroz unas 475.000 hectáreas, con una producción de unos 3,2 millones de toneladas de arroz cáscara (1,8 millones de arroz blanco). Italia es el primer productor, con un 52% de la superficie total, seguido de España con un 20% de la misma. En cuanto a la producción de arroz cáscara, los porcentajes son del 50 y un 30 % respectivamente, debido al mayor rendimiento agronómico del arroz en España. La Unión en su conjunto es deficitaria, si bien Italia y España son excedentarias.

La producción media de arroz en España está en torno a las 830.000 toneladas de arroz cáscara (“paddy”), de las cuales, más del 60%, se producen en Andalucía y Extremadura, siendo el rendimiento medio de 7,3 t/ha. En cuanto a variedades, el 65% de la producción se obtiene de variedades de arroz del tipo índica, producido prácticamente en su totalidad en Andalucía y Extremadura y el 35% restante, de variedades de arroz del tipo japónica, siendo este último tipo de arroz el más utilizado en España. (MAGRAMA, 2013).

Tabla 1. Superficies de base de arroz para el pago de la ayuda específica al cultivo del arroz, 2013.

Comunidades Autónomas	Superficie (Has)	Porcentaje (%)
Andalucía	34.795	33,1%
Aragón	12.017	11,4%
Illes Balears	50	0,0%
Castilla-La Mancha	370	0,4%
Cataluña	20.850	19,9%
Extremadura	20.486	19,5%
Región de Murcia	400	0,4%
Navarra	1.580	1,5%
La Rioja	75	0,1%
C. Valenciana	14.350	13,7%
Total España	104.973	100,0%

1.2. DESCRIPCION BOTANICA

1.2.1. Las raíces

La raíz primaria no desempeña una función nutritiva, sino esencialmente de anclaje al terreno. Las raíces embrionales degeneran rápidamente y son sustituidas por coronas de raíces que, posteriormente, se forman en cada nudo en la base del tallo. Después y progresivamente las raíces se desarrollan en cada tallo formado durante el ahijamiento y a menudo también

en los nudos más elevados, como en el caso de trasplante. El desarrollo máximo del sistema radicular se alcanza al término del ahijamiento, paralelamente con el máximo incremento porcentual peso de la planta y de la absorción de nutrientes, extensión y densidad del aparato radicular están estrechamente correlacionadas con la forma de cultivo: aireación del suelo, altura de la capa de agua y sistema de riego, fertilización del terreno. etc. Durante la floración termina la formación y desarrollo de las raíces; la absorción de nutrientes cesa en la fase de maduración láctea, 10-15 días después de la floración. (Tinarelli A., 1989)

Durante las primeras fases vegetativas las raíces se desarrollan junto a la superficie del terreno; después, en la fase de ahijamiento también en profundidad: en función de la variedad y en igualdad de condiciones, más o menos profundamente según que la modalidad de riego sea por turnos o con inundación continúa.

Normalmente, las variedades muy resistentes profundizan mucho más sus raíces que las sensibles.

1.2.2. El ahijamiento y los tallos

Transcurridos 20-30 días de la siembra, la plántula comienza la diferenciación de los tallos secundarios o de ahijamiento a partir de las yemas laterales, situadas en la base del tallo primario, en la axila de las hojas. El fenómeno se repite en los tallos nuevos, dando lugar a la formación de tallos de tercer orden.

La intensidad y la fecha de inicio del ahijamiento dependen de muchos factores relacionados con las características genéticas de la variedad cultivada, con las condiciones climáticas y edáficas del lugar de cultivo y con las técnicas agrarias empleadas. Pueden formarse hasta 50-60 tallos.

Las temperaturas demasiado bajas reducen o inhiben el ahijamiento, como también la excesiva altura de la capa de agua, el terreno poco fértil, la elevada densidad de siembra, el trasplante demasiado profundo o realizado con plantas excesivamente desarrolladas; también las sustancias tóxicas acumuladas en el terreno y en el agua o las suministradas por los productos pesticidas, por la escarda química o por otras causas de distinto orden. El ahijamiento termina simultáneamente con la formación embrional de los primeros esbozos florales. Por diversos factores, el ahijamiento puede reanudarse después del periodo indicado: en tal caso, en muy pocas ocasiones se emiten tallos fértiles.

Los nudos situados en la base de los tallos están muy juntos, aproximadamente a 1 o 2 mm; progresivamente, se distancian de abajo a arriba. Los entrenudos superiores alcanzan longitudes variables según la variedad: de 7-8 a 18-20 cm. La altura de la planta es función del número de los entrenudos, entre 10 y 15, y de su longitud; 5-7 son epigeos. Los entrenudos son lisos de color verde más o menos intenso. A veces tienen pigmentaciones antociánicas con estrías más o menos evidentes; la pigmentación se limita a la epidermis o llega también a los haces vasculares, hasta producir una coloración rojo-vinosa o violeta intenso. Los nudos se caracterizan por el espesor, que es mayor que el de los entrenudos; se ensanchan por la presencia de un engrosamiento: el pulvinulo; sobre éste se articula la vaina foliar. El nudo puede tener coloraciones diversas relacionadas con la de otros órganos de la planta.

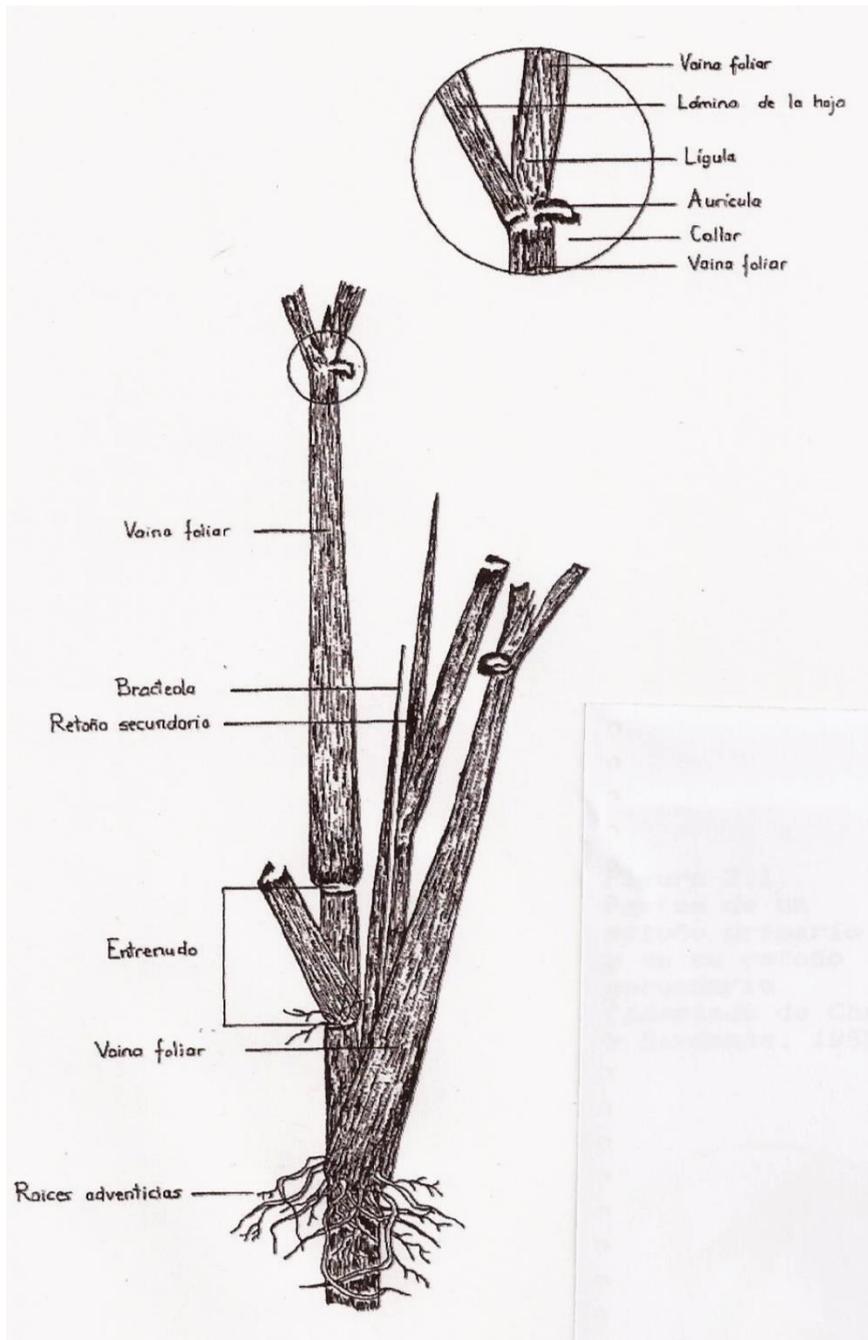


Figura 2. Partes de un tallo primario y su hijuelo secundario. /Adaptado de Chang y Bardenas, 1965)

1.2.3. La hoja

La vaina foliar, que envuelve el entrenudo inmediato superior, se desarrolla en longitud en correlación con la dimensión del entrenudo; lo abraza más o menos ampliamente según las características varietales.

En el punto de articulación de la vaina con el limbo foliar se diferencia la lígula y las aurículas.

Durante las fases vegetativas se forman tantas hojas como entrenudos no hipogeos. A medida que avanza el desarrollo de las plantas, las primeras hojas formadas terminan su función y se secan.

Después de la floración cada tallo presenta solo 4-7 hojas. El limbo foliar es más o menos pubescente; tiene un porte más o menos erecto y forma un ángulo con la vaina, variable según su posición en la planta y la variedad. La longitud y la coloración son igualmente características de la variedad.

La última hoja se llama “bandera” u hoja panicular; a veces permanece erecta durante la floración y se inclina sólo en la maduración completa.

Las hojas situadas en la base del tallo ejercen una acción trófica esencialmente a favor del aparato radicular; la hoja bandera y la penúltima desempeñan, en mayor medida que las otras un papel muy importante para la formación de la panícula y de los granos.

1.2.4. La panícula

El último entrenudo, el que emerge de la vaina de la hoja bandera, tiene una constitución distinta a la de los demás: más que cilíndrico, posee nervios abultados y sobresalientes y, en algunas variedades, es sinuoso. El cuello se une al raquis de la panícula en el nudo panicular. La distancia que separa este nudo

y la articulación vaina-limbo de la última hoja es muy variable entre variedades y oscila dentro de la misma.

El raquis, más o menos flexible al llegar la maduración permite que la panícula adopte un porte variable: semierecto, semipéndulo o colgante.

Los tipos de panícula se distinguen por las siguientes características: longitud, distribución verticilada o no de las ramificaciones primarias: ángulo formado entre éstas y el raquis, que indica la forma de la panícula: cerrada, abierta y laxa; densidad de la panícula: expresada por la relación entre el número total de flores y la longitud de la panícula.

1.2.5. La flor o espiguilla

El pedúnculo o pedicelo es la última ramificación de la panícula que puede estar unido a una o más espiguillas.

La flor está formada por:

a) Dos brácteas externas o inferiores: las glumas. Son pequeñas y de forma diferente.

b) Dos brácteas internas o superiores: las glumillas. La insertada más abajo, llamada lema, es la más grande y lleva cinco nervios; el dorsal, en el caso de variedades aristadas, se prolonga para formar una arista ó raspa, más o menos larga. La glumilla superior, menos desarrollada, se llama palea y tiene tres nervios. Las puntas de los dos nervios dorsales de cada glumilla se disponen juntas para formar el ápice del grano; tiene una forma y una pigmentación distinta según la variedad.

La superficie de las glumillas es reticulada; puede ser glabra o, más o menos intensamente, pelosa.

c) El periantio: está formado por dos pequeñas lodículas; tienen la función de abrir las glumillas en el momento de la antesis, al principio de la floración.

d) El androceo: consta de dos verticilos de tres estambres cilíndricos cada uno; cada filamento termina en una antera formada por dos lóbulos.

e) El gineceo: formado por un pistilo de un solo carpelo con ovario ovoide y dos estigmas plumosos que sobresalen por encima del pistilo. Estos son normalmente blanco-hialinos, pero pueden estar diversamente coloreados.

1.2.5.1. La floración y la fecundación

La formación embrional de la panícula se inicia 50-70 días después de la germinación de la semilla. El intervalo de tiempo que transcurre entre las dos fases es una característica varietal, pero que depende mucho de la intensidad luminosa, de la duración del fotoperiodo y particularmente de la temperatura.

Las condiciones nutritivas de la planta en esta fase, además de las térmicas y luminosas precedentes determinan el número de flores de la panícula.

El primordio floral crece desarrollando gradualmente el último entrenudo del tallo, la panícula y las flores. En la fase de espiga en zurrón en estado avanzado, la inflorescencia ha alcanzado ya su dimensión final.

El espigado, o emergencia de la panícula, es simultáneo con la antesis y la floración de las flores situadas en el ápice de la panícula, las dos fases se confunden. La panícula emerge completamente en 8-15 días

La apertura de las glumillas de la flor se denomina floración.

El tiempo que la flor permanece abierta depende estrechamente del tipo varietal aunque está muy condicionado por los valores de temperatura, humedad del aire e intensidad luminosa.

En algunas variedades la flor permanece abierta durante 5- 10 minutos, en otras hasta 60 o más. Cuando las temperaturas son frías y la luminosidad baja, la flor permanece abierta durante mayor tiempo; lo mismo sucede cuando el aire se encuentra sobresaturado de humedad; generalmente en las variedades tempranas la duración es menor que en las de ciclo vegetativo largo.

Días fríos y lluviosos sucesivos, al inicio del espigado, retrasan la floración mientras que las condiciones climáticas caracterizadas por temperatura de 25-30 °C, humedades relativas del aire en torno al 70-80% y una luminosidad alta, son las óptimas; la floración se verifica más intensamente durante el mediodía, las 11 y las 14 horas.

En el arroz se realiza normalmente la autopolinización; sin embargo, la polinización cruzada es posible, tanto más cuanto mayor tiempo permanecen las flores abiertas. El polen, en el momento de la dehiscencia no se encuentra en condiciones de germinar, mientras que el óvulo ya puede recibir el tubo polínico cuando se abre la flor. El porcentaje de fecundación cruzada es muy variable, normalmente del 1%.

Los granos de polen, una vez sobre los estigmas, emiten el tubo polínico; uno de ellos alcanza el óvulo y lo fecunda. El proceso de fecundación puede invertir de 1 a 3 horas, desde el comienzo de la antesis.

Después de la fecundación, las glumillas se cierran encajando sus bordes; después de 4-5 días, los márgenes de las glumillas se silicifican y sueldan entre ellos.

1.2.6. La semilla y la cariósida

La formación del grano se completa en un período variable, entre los 30 y los 60 días después de la floración; sin embargo, el embrión se encuentra morfológicamente completo a los 10-15 días. Una vez formado el embrión, el

grano de arroz se ensancha en su porción basal, y más tarde se alarga; la última parte en formarse es la central, donde en algunas variedades puede quedar una banda amilácea blanca, índice de una maduración imperfecta.

Como consecuencia, se forma el fruto llamado arroz cáscara o paddy, que consiste en una cariósida envuelta por las glumillas. La cariósida se compone: de los tegumentos seminales que en su conjunto forman el pericarpio, de una capa de aleurona, del endospermo o albumen y del embrión, también llamado germen.

Todos o parte de los tegumentos de la semilla pueden tener un color distinto del normal que es blanco-grisáceo; y que puede variar en una amplia gama de colores, tales como el amarillo, el rojo o el violeta.

El grano de arroz puede tener un aspecto totalmente translúcido, con estructura compacta y cristalina, o puede ser opaco en una zona central o centro-lateral más o menos extensa del grano; esta zona, llamada “perla”, es de color blanco-lácteo.

El embrión de 1.5-2.5 mm de longitud está situado en la parte inferior y lateral, en una cavidad del endospermo y separado de él por una membrana celular: el escutelo.

Está formado por los primordios de la raíz embrional y por la gémula, con los primordios de la primera hoja, que está recubierta por el coleótilo. El hipocotilo une la radícula con la gémula.

Distintas causas pueden producir abortos o malformaciones de la cariósida; se trata principalmente de infecciones producidas por bacterias u hongos, del granizo y de las temperaturas excesivamente bajas.

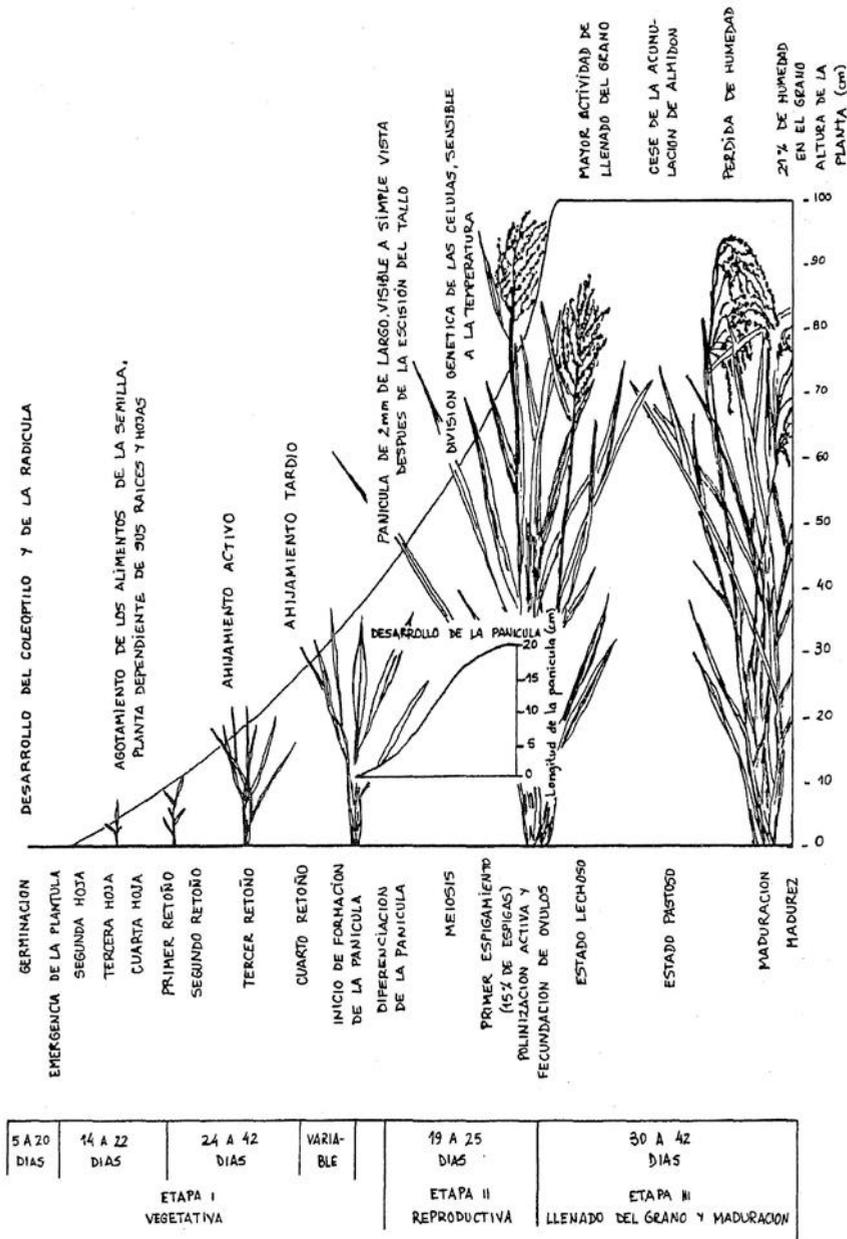


Figura 3. Etapas de desarrollo de la planta de arroz. (De Stansei, 1975)

1.3. VARIEDADES DE ARROZ

El agricultor que se disponga a la elección de la variedad a cultivar tiene que proceder al examen de aquellas que se encuentran en el mercado, basándose en las exigencias de carácter agronómico primarias, a las que se añaden otras que pueden adquirir incluso mayor importancia según el ambiente particular agronómico en el que el agricultor trabaja, o según condiciones de tipo económico-comercial concretas.

En las variedades tradicionales de arroz de altura elevada y superficie foliar abundante, esta relación es aproximadamente de un 0.3-0.4, mientras que en las variedades mejoradas de altura y superficie foliar reducidas, tiende a 0.5-0.6.

Esto significa que, en las variedades modernas y mejoradas, una cantidad mayor de biomasa producida por la planta a través del proceso de la fotosíntesis se invierte en la producción del grano.

Estas variedades mejoradas son, pues, más eficientes en lo referente a la conversión de la energía solar en sustancias de reserva del grano.

Las características morfofisiológicas que hoy se consideran fundamentales en las variedades mejoradas para aumentar potencialidad productiva son:

a) Tallo: erecto y rígido, que permita a la planta resistir el encamado o volcado;

b) Hojas: erectas, cortas y espesas, compatibles con un rendimiento fotosintético más elevado por unidad de superficie;

c) Hijuelos: en un número limitado, cerca del tallo principal, para permitir una penetración más fácil de la luz;

d) Aparato vegetativo: reducido, para conseguir un mayor rendimiento fotosintético y un menor índice de respiración;

e) Índice de cosecha: una relación entre el grano y la planta entera lo más elevada posible, para conseguir una capacidad de producción alta.

Básicamente, las variedades cultivadas pueden agruparse en dos tipos:

- Indica: Cariópside estrecha, más alargada, generalmente glabra. Tienen menor porcentaje de cascarilla, permite anticipar la recolección y ahorrar energía en el secado.

Entre las variedades en cultivo, encontramos: Puntal, Gladio, Sirio Cl.

- Japónica: Cariópside redondeada, glabra o pilosa. Adaptada a clima más fresco.

Las variedades más cultivadas son: Gleva, Fonsa, Jsendra.

1.4. ECOLOGIA DEL ARROZ

La formación y desarrollo de una planta depende de tres factores: del potencial genético propio de la variedad cultivada, de las condiciones climáticas que se verifican durante el crecimiento de la planta y de las prácticas de cultivo realizadas.

Los factores climáticos, como el calor, la luz y la humedad, deben presentarse en combinación óptima, diferente según cada fase de cultivo, para que se realicen favorablemente los procesos fisiológicos y metabólicos: nutrición, síntesis clorofílica, respiración y metabolismo de los nutrientes absorbidos.

1.4.1. La luz

La acción realizada por las radiaciones luminosas es diferente no solamente por las características de ésta, sino también por la respuesta del genotipo o variedad cultivada, siendo también distinta en las diversas fases en que se encuentra la planta.

La oscilación luz-oscuridad, o la duración del día, definen el fotoperiodo; éste determina con su variación la longitud del ciclo vegetativo de la planta, diferente para cada variedad según la información genética propia. Existen variedades cultivadas poco sensibles o indiferentes al fotoperiodo; otras, por el contrario, son sensibles.

El fotoperiodo óptimo es aquel del que se deriva un intervalo mínimo germinación-floración y es distinto para cada variedad.

El inicio de la germinación no depende de la luz, pero una vez que se ha producido la emisión del coleótilo, la oscuridad produce el alargamiento rápido del mismo.

En la fase de planta embrionaria y de plántula, el arroz tiene escasas exigencias de luz que aumentan gradualmente durante su desarrollo, siendo el período más crítico el comprendido entre el inicio de la formación embrional de la panícula y los 10 días anteriores a la maduración completa. La cantidad de energía absorbida en dicho período influye sobre el número de flores por unidad de superficie cultivada y sobre el almacenamiento de compuestos elaborados en la cariósida.

Una disminución del 30% de la radiación solar óptima durante la fase de meiosis (10-15 días antes de la floración) reduce el número de flores, tanto más cuanto mayor es la duración de falta de luz directa (Tinarelli A, 1989).

La relación energía radiante/horas de sol en los dos meses anteriores a la recolección tiene una gran influencia sobre la producción final. De hecho," la

velocidad de transporte de los productos elaborados desde la planta a las cariósides aumenta con el incremento de la intensidad luminosa.

1.4.2. La temperatura

La temperatura óptima, mínima y máxima que la planta de arroz necesita para su desarrollo es proporcional a la duración del ciclo vegetativo y varía notablemente durante las distintas fases vegetativas.

La germinación depende de la temperatura que se registra durante la siembra: la mínima oscila de 10 a 12°C y la óptima de 28 a 30°C.

Durante las diversas fases vegetativas se produce una interacción entre la temperatura y la luz. Durante los primeros estados de desarrollo tiene una mayor influencia la temperatura para la diferenciación de los órganos vegetativos; después contribuye, junto con la luz a determinar la altura y el desarrollo de la planta, la duración de la fase vegetativa y la intensidad y rapidez del ahijamiento.

Cuando la temperatura desciende por debajo de cierto nivel, la intensidad de los distintos procesos fisiológicos, fotosíntesis, respiración, absorción y translocación de los elementos minerales o sustancias orgánicas producidas, se reduce notablemente.

Las temperaturas por debajo de 20°C, durante 7-10 días, y que se verifiquen 30-35 días antes de la floración, durante el encañado, retrasan la floración: es el momento en que se pasa del estadio vegetativo al de reproducción.

En condiciones de temperatura excesiva, el número de tallos desarrollados durante el ahijamiento es menor al transcurrir éste más rápidamente y abreviar esta fase, ya que la intensidad de crecimiento diario de la planta es mayor con temperaturas altas.

La intensidad de crecimiento depende, en mayor medida, de los niveles térmicos del agua, independientemente de la temperatura del aire.

La fase reproductiva acusa más las condiciones térmicas que la vegetativa por la elevada tasa de esterilidad que producen las temperaturas bajas desde la formación embrional de la panícula hasta que concluye la floración. El factor térmico influye más sobre la planta de arroz durante la fase crítica de la división meiótica de las células madres del polen y durante la floración, 10- 12 días antes de la floración, y es algo menor en la fase anterior, la de la diferenciación de las flores, 24-25 días antes de la floración. La temperatura crítica para la inducción de la esterilidad se sitúa entre los 10 y los 15°C: el fenómeno se acentúa con valores térmicos moderadamente bajos pero prolongados. El fenómeno se reduce, hasta anularse, en condiciones de temperatura diurna elevada y nocturna baja (Tinarelli A, 1989).

La antesis es la segunda fase sensible al frío. La inducción de la esterilidad por temperaturas bajas durante la antesis puede darse en dos casos: antes o después de que se abran las flores.

En un día frío, las flores raramente se abren, pudiendo permanecer así, en espera de condiciones mejores, durante muchos días. Las flores que se abran serán estériles con mayor seguridad, pero, si se prolonga el tiempo frío por 3-4 o más días, aumenta la probabilidad de esterilización de las cerradas.

Las temperaturas críticas para la germinación del polen o para la emisión del tubo polínico varían entre 7-14 °C, según el genotipo varietal.

La temperatura es crítica para la maduración cuando se encuentra entre los 12 y los 18 °C; la óptima es de 20-22°C. Las temperaturas medias, próximas a los 30°C son desfavorables para la granazón de las cariópsides.

Las bajas temperaturas, durante la maduración, influyen sobre el porcentaje de granos completamente maduros y sobre su peso unitario. Con

temperaturas medias diarias inferiores a 18°C, el peso de los 1000 granos disminuye, y a la temperatura constante de 16 °C, el porcentaje de granos completamente maduros es prácticamente cero.

La integral térmica, considerada como la suma de las temperaturas medias diarias superiores al cero de vegetación durante todo el ciclo de cultivo del arroz, tiene una gran influencia sobre el rendimiento productivo: cuanto más elevado es el valor anual, mayor es la producción. En Valencia este valor oscila alrededor de los 4700 °C.

1.4.3. El agua

La planta de arroz, como cualquier otra planta, necesita disponer de una cantidad suficiente de agua para que pueda realizarse la absorción de los nutrientes, su transporte, el metabolismo y la sucesiva migración de los productos elaborados.

La semilla, para germinar, tiene que absorber aproximadamente dos veces su propio peso en agua. El ahijamiento es más rápido y mayor cuando se verifica con el terreno saturado de agua y no inundado. El desarrollo inicial de las raíces es mayor con un contenido bajo de humedad del suelo y es menor en condiciones de inundación, especialmente si el agua es estanca. Un nivel elevado de la capa de agua es conveniente cuando, con el alargamiento de los entrenudos al comienzo del encañado, se inicia la fase reproductiva de la formación embrional de la panícula.

La excesiva altura de la capa de agua puede producir daño, con intensidad variable, según la fase vegetativa en que se encuentra la planta y según la duración de la situación. Puede ser causa de un excesivo alargamiento del tallo y de las vainas foliares; de un escaso desarrollo radicular,

particularmente en profundidad; de un menor ahijamiento; de una mayor susceptibilidad al encamado y de una producción menor.

1.4.4. El suelo

El arroz puede ser cultivado en cualquier tipo de terreno, cualesquiera que sean sus características físicas, de textura y estructura, y químicas. La única limitación se deriva de la necesidad de carácter hidráulico que supone la inundación: como consecuencia, es indispensable cierto grado de impermeabilidad del subsuelo.

Los terrenos inundados modifican el metabolismo bacteriano que pasa a ser fundamentalmente anaeróbico. Se establecen condiciones de reducción, favorecidas por el pH bajo y por la presencia de elevadas cantidades de sales de hierro.

Solamente una capa de 2-3 mm puede quedar en condiciones de oxidación, si el agua de riego aporta suficientes cantidades de oxígeno o como consecuencia de desecaciones que se realizan durante el cultivo.

En la capa oxidada, el hierro se encuentra en forma de óxido férrico, trivalente, mientras que en el estrato reducido situado debajo, donde los compuestos de este elemento se solubilizan y arrastran por el agua de infiltración, lo está como compuesto ferroso, bivalente.

Con la inundación del arrozal, las capas más superficiales pasan a tener una estructura más suelta o muy fina, mientras que las profundas pasan a estar más comprimidas.

Las producciones más elevadas se consiguen, generalmente, en los terrenos de textura esencialmente arcillosa, bien provistos de humus.

La fertilidad del suelo depende en gran parte de los compuestos mineralógicos que lo constituyen, junto con el tipo de alternativa y las prácticas de cultivo utilizadas en el tiempo.

La acidez, medida como pH, en sí misma es poco importante, teniendo en cuenta que el arroz puede ser cultivado entre límites muy amplios de pH: de 4.0 a 8.0; pero los valores determinados son un índice muy útil de los estados de carencia o exceso de los nutrientes en el terreno, adecuados o tóxicos para el cultivo.

Los terrenos de arrozal albergan una microflora y microfauna bastante distinta de la de los terrenos no inundados: los hongos, algas, protozoos, microbios y bacterias presentes son distintos en la especie o en el género y varían su concentración o acción según el grado de oxidación, estructura y temperatura del ambiente en el que se encuentran.

Las prácticas de cultivo ejercen una influencia notable sobre esta población que aumenta y actúa principalmente en unión y como consecuencia de las labores del terreno.

Entre los microorganismos con un interés particular se encuentran: fijadores de nitrógeno, bacterias nitrificantes, agentes que descomponen la celulosa, amonizadores y desnitrificantes.

Por lo que respecta a las algas, el ambiente ácido favorece la formación de las verdes; el alcalino, especialmente después de la inundación prolongada, favorece el desarrollo de las azules, termófilas, que se depositan sobre el terreno.

Las algas transforman el nitrógeno inorgánico del suelo en orgánico, determinando pérdidas de nitrógeno asimilable para el cultivo. Pero el *Azotobacter*, que vive en asociación con las algas, se encuentra en condiciones

de fijar el nitrógeno atmosférico presente en el aire produciendo un enriquecimiento del suelo.

En resumen, un terreno hipotético ideal para el mejor desarrollo de la planta de arroz debe tener:

- una buena capacidad de retención hídrica en correspondencia con una moderada permeabilidad, como consecuencia de una discreta presencia de arcilla y materia orgánica capaz de asegurar una reserva constante de agua;
- una gran capacidad de intercambio catiónico;
- un buen porcentaje de saturación de bases de Calcio, Potasio y Amonio;
- un alto, pero no excesivo, contenido de materia orgánica;
- un valor inicial del pH próximo a 6, que asegure un buen abastecimiento de N, K, P, Ca, Mg, Fe y Si, además de Zn, Cu y Mo, y otros oligoelementos;
- condiciones que no favorezcan fenómenos de toxicidad derivados de determinados estados químicos del Fe, Al, CO₂, SH₂ y, en general, de ácidos orgánicos y productos tóxicos de la descomposición de la materia orgánica.

1.5. OPERACIONES DE CULTIVO

1.5.1. La preparación del terreno

Los terrenos cuya naturaleza es esencialmente limosa, después de una inundación prolongada, adquieren una estructura masiva; los arcillosos, de bloques y aquellos ricos en arena o piedras se mantienen porosos o con granulas

sueltos y abiertos. La estructura granular, ideal para una mayor eficacia y conservación del suelo, solamente se alcanza a consecuencia de las labores y, con mayor facilidad, en los terrenos bien dotados de materia orgánica y suficientemente humificada.

Por medio de las labores, el terreno se voltea, mezcla y rompe, con consecuencias de diferente importancia para el cultivo del arroz, según su composición mineralógica y las sustancias orgánicas presentes en él.

En los terrenos excesivamente orgánicos o exclusivamente turbosos, y en aquellos de naturaleza casi absolutamente arenosa y poco fértil, el laboreo, especialmente si es demasiado profundo, desempeña un papel menos importante y tal vez perjudicial para el cultivo.

En los terrenos sueltos, la labor profunda solamente está justificada en el caso de elevada fertilidad de las capas superficiales o cuando las capas inferiores sean arcillosas; también cuando la cantidad de abono verde así lo aconseja para conseguir su incorporación a la profundidad adecuada.

El volteo del suelo por medio del arado u otro equipo consigue los siguientes objetivos fundamentales:

- a) aireación del terreno
- b) incorporación del fertilizante
- c) enterramiento de los elementos orgánicos
- d) limpieza del terreno de algunas malas hierbas

La aireación del terreno es tanto más importante y conveniente cuanto más arcilloso es el suelo, y mayor número de años se prolonga el cultivo del arroz.

La incorporación de los fertilizantes en el terreno permite limitar las pérdidas de los elementos nutritivos por solubilización y sucesiva lixiviación. La adsorción de los fertilizantes es superior cuanto mayor es la disgregación del

suelo, lo que tiene lugar después de la realización de un laboreo perfecto; la mineralización del nitrógeno orgánico después de la inundación puede así acelerarse, con lo que aumenta la disponibilidad en nitrógeno amoniacal (Tinarelli A., 1989).

El enterramiento de la materia orgánica, residuo de cultivos anteriores o incorporados, aumenta la porosidad del suelo y produce una mayor aireación de las capas más profundas; cuando el laboreo se realiza en otoño se consigue una mineralización más intensa del nitrógeno orgánico y de la materia orgánica incorporada.

El laboreo no consigue, de una forma completa, el control de las malas hierbas, por lo que se tiene que recurrir al empleo de las técnicas de la escarda química. La eficacia de las labores se evidencia sobre todo en la lucha contra las semillas de arroz con pericarpio rojo, especialmente cuando el laboreo se realiza en el otoño.

Desde el punto de vista del momento, forma y medio de ejecución, la preparación del terreno se puede realizar: durante el otoño o la primavera; de forma profunda o superficial; con arados, fresadoras, azadas mecánicas, cultivadores o cavadoras rotativas.

El laboreo del terreno es conveniente realizarlo en otoño en suelos muy pesados, y en aquellos casos en que, por motivos diferentes, se observe una descomposición y mineralización de la materia orgánica demasiado lenta.

Con el laboreo otoñal también se consigue un mejor drenaje de las aguas de lluvia. La práctica del laboreo en otoño adquiere mayor importancia, en el caso de querer incorporar al terreno la paja o el rastrojo del año anterior; sin embargo, para que esta operación sea eficaz es necesario que se realicen, al mismo tiempo, aportaciones de cantidades adecuadas de compuestos nitrogenados y de cal.

En relación con la profundidad de la labor, en las situaciones medio normales para el cultivo del arroz con una profundidad que oscila entre los 15 y los 20 cm es suficiente. Para realizar las funciones propias de nutrición y sostén solo una mínima parte del sistema radicular explora profundidades superiores a las indicadas.

La existencia de zonas altas y bajas en el arrozal no permite una adecuada y uniforme circulación del agua, disminuye o anula la eficacia de los tratamientos herbicidas, impide que la planta utilice de forma uniforme los elementos fertilizantes incorporados y aumenta o disminuye, según los casos, el ahijamiento regular de la planta.

Antes de las labores de nivelación, se ha de dar un pase de grada después de la labor de alzado sobre terreno seco.

El gradeo realizado antes de la inundación, asume tres importantes funciones: la rotura y desmenuzamiento de los terrones grandes formados después del volteo del suelo con la labor de alzar, la incorporación perfecta de los fertilizantes y una ligera nivelación del suelo.

Es necesario no desmenuzar el terreno excesivamente, formando pequeños terrones de 2-5 cm de diámetro. La pulverización excesiva de la superficie de siembra en terrenos arcillosos y limosos produce una rápida compactación de las capas superiores y, después, una costra superficial que no favorece el anclaje de la planta embrionaria en el suelo y la profundización rápida de las raicillas.

Una vez desmenuzado el terreno, se procede a su nivelación con una trailla eliminando las alturas y socavones provocados por el pase de la maquinaria, especialmente durante la recolección de la cosecha anterior. Esta trailla puede llevar incorporado un dispositivo laser de nivelación con lo que la nivelación es perfecta en toda la parcela.

1.5.2. Calendario de las operaciones de cultivo

- FEBRERO-MARZO: Preparación simientes. Laboreos, perfeccionamiento márgenes y ribazos.
- MARZO-ABRIL: Distribución de abonos. Gradeo. Escarda de márgenes y ribazos. Nivelación.
- MAYO: Inundación. Control del agua. Siembra. Tratamientos alguicidas. Tratamientos insecticidas.
- JUNIO: Control del agua y desecaciones. Control de algas. Escarda de Echinochloa. Abonado de cobertera.
- JULIO: Limpieza y desinfección almacenes. Puesta a punto cosechadora.
- AGOSTO: Eliminación del agua del campo.
- SEPTIEMBRE-OCTUBRE - Recolección. Secado. Almacenamiento.

1.6. FERTILIZACION DEL ARROZ

Los objetivos de la fertilización del arroz, como en cualquier otro cultivo, son numerosos:

- a) modificar el estado de carencia del suelo respecto a los elementos nutritivos individuales;
- b) establecer o restablecer en el terreno, entre los diversos elementos que caracterizan su fertilidad, una proporción óptima para su utilización por la planta del arroz;
- c) aumentar el potencial de fertilidad del suelo;
- d) compensar la extracción de elementos por la producción de arroz, teniendo en cuenta las pérdidas inevitables;

e) aumentar el valor comercial y biológico del producto final obtenido.

1.6.1 El abonado nitrogenado

El nitrógeno es uno de los factores nutritivos más importantes, por no decir el principal, que determinan la producción de arroz, en función de la respuesta varietal. En general, se consiguen producciones más elevadas con la aplicación de nitrógeno.

En las zonas de cultivo templadas, la disponibilidad del nitrógeno es casi siempre un factor limitante de la producción; por lo tanto, el suministro de dosis, incluso altas, de nitrógeno para conseguir producciones mayores es una práctica habitual.

El rendimiento del grano puede aumentar proporcionalmente con el aumento de la dosis de nitrógeno, si bien hasta un cierto nivel.

Efectivamente, si el suministro de nitrógeno excede el valor óptimo relacionado con las características varietales, la producción de grano y la calidad se reducen en relación, sobre todo, con la menor fertilidad de la panícula y con un menor número de granos completos. Por otro lado, aumenta la sensibilidad a la enfermedad de la Piriculariosis (*Pyricularia oryzae* Cav.) y al encamado o volcado.

La planta del arroz, de todas maneras, también puede crecer y producir una cierta cantidad de grano en un terreno con una pequeña dotación de nitrógeno sin ninguna aportación adicional del elemento. En las zonas tropicales, por ejemplo, la aplicación de nitrógeno a las variedades no mejoradas generalmente no determina un incremento evidente de la producción.

La mayor respuesta productiva frente al nitrógeno parece encontrarse íntimamente correlacionada con unas características morfofisiológicas de la planta, como, por ejemplo, poca altura, tallo rígido y erecto, hojas espesas,

cortas y erectas, de color verde oscuro marcada resistencia a las enfermedades en general y al encamado en particular, características presentes de manera especial en algunas variedades modernas mejoradas del grupo Japónica.

Se calcula que, normalmente, por cada tonelada de arroz cáscara producida, la planta debe extraer de 19 a 21 kg de nitrógeno. No obstante, en la práctica hay que tener en cuenta la dosis máxima conveniente, que puede limitar sustancialmente la posibilidad de nuevos incrementos productivos. En líneas generales, con variedades de productividad buena o elevada, la dosis óptima de nitrógeno se sitúa hacia los 150-170 kg/ha en terrenos de mediana fertilidad. Una mayor aplicación del elemento en las variedades actualmente disponibles hace aumentar notablemente el riesgo de esterilidad floral, aumento de la sensibilidad a las enfermedades y al encamado y la duración excesiva del ciclo.

Las dosis de nitrógeno que hay que utilizar en el arrozal varían también según las exigencias del cultivo que dependen de la fertilidad del terreno y de la variedad cultivada.

En el caso de terrenos fuertemente orgánicos y de un contenido elevado de nitrógeno hay que reducir drásticamente la aplicación del elemento y generalmente no es necesario añadir fertilizante.

Las dosis más elevadas se aplican en las variedades más productivas del tipo Japónica, que toleran mejor el nitrógeno. En general, las variedades del ciclo largo o muy largo (160-170 días) toleran mejor las dosis elevadas de nitrógeno que las variedades de ciclo corto (variedades primerizas: 120-130 días).

Si se cultivan variedades mejoradas desde el punto de vista cualitativo, con grano cristalino, largo y estrecho, derivadas de los tipos de arroz Indica hay que aplicar el nitrógeno con una extraordinaria prudencia. Son casos en los que

hay que reducir las dosis de nitrógeno, ya que estos tipos de arroz toleran mucho menos el nitrógeno y son más sensibles a los ataques de las enfermedades y al encamado o volcado.

El nitrógeno se absorbe durante todo el ciclo de la planta. Es necesario, por lo tanto, que se disponga de este elemento durante toda la estación de cultivo y, de manera particular, durante el periodo de crecimiento más activo (fase de ahijamiento y encañado) y de la fase reproductiva (floración y formación del grano).

Durante el período de crecimiento más rápido, la demanda de nitrógeno es muy elevada, relacionada con la necesidad de desarrollar un número máximo de hijuelos, compatible con la variedad. La absorción de nitrógeno durante la fase reproductiva y, especialmente, durante el momento de diferenciación de la panícula, aumenta el número de espiguillas fértiles por planta y, más adelante, mediante los procesos de traslado, favorece el llenado de granos y hace aumentar el peso unitario de las semillas. De este modo, sobre todo cuando se utilizan dosis elevadas de fertilizantes en variedades exigentes y de ciclo largo, es útil fraccionar el abono nitrogenado para asegurar una nutrición óptima de la planta. El mejor resultado productivo se ha obtenido en las diferentes pruebas aplicando el nitrógeno en dos épocas: 2/3 aproximadamente en la siembra y 1/3 de cobertura, cuando tiene lugar la diferenciación de la panícula (Russo, 1975).

Con esta aportación tardía aumenta el número de espiguillas por panícula y peso de 1000 semillas, es decir, aumenta el rendimiento del cultivo por hectárea y el contenido proteico del grano.

Los fertilizantes nitrogenados:

a) Urea: Es un producto granulado blanco que contiene el 46% de N bajo forma amídica. Se utiliza bastante por la reducción de los costes de

almacenamiento y transporte, derivados de su alto porcentaje de N. Es bastante soluble e higroscópica. En el terreno se convierte en NH_4 , antes de este paso, si no fuera adsorbida y retenida por las partículas del suelo, su molécula $-\text{NH}_2$ -, después de la solubilización, sería fácilmente lixiviable y se perdería; como consecuencia, después de la distribución del abono en el arrozal es conveniente enterrar rápidamente y dejar transcurrir 4-7 días antes de la inundación, con el fin de favorecer en el terreno el proceso de adsorción del NH por las micelas coloidales.

b) Sulfato amónico: Es una sal cristalina que contiene el 21% de N y el 24% de azufre. Es soluble en el agua, pero no higroscópica, por lo que su almacenamiento es fácil. Es un abono ideal para el arrozal como consecuencia de las pequeñas pérdidas por lixiviación a causa de la adsorción del ion NH_4 por los coloides; no obstante, la urea lo reemplaza por su menor coste.

c) Nitrato amónico: Contiene el 35% de N, la mitad bajo forma nítrica y la otra amoniacal. Se vende y emplea en forma de nitrato amónico-cálcico. Está principalmente indicado para el abonado del arroz en cobertera.

1.6.2. El abonado fosforado

La planta de arroz exige una disponibilidad continua de fósforo durante todo el ciclo y, de manera especial, durante la fase de ahijado y al principio de la formación de la panícula. Por otro lado, en los estadios iniciales, una disponibilidad adecuada fomenta el desarrollo de las raíces, aspecto necesario para asegurar la absorción nutritiva adecuada.

La alimentación fosfórica adecuada también mejora la tolerancia del arroz al frío, aspecto de una importancia fundamental para la planta joven, sobre todo en las zonas de clima templado (Ishizuka, 1973).

En los arrozales sumergidos, la disponibilidad de fósforo puede aumentar porque una parte de los fosfatos de hierro y de aluminio de la tierra son solubles en condiciones reductoras.

Los fertilizantes fosfóricos han de ser aplicados antes de la siembra del arrozal. Las aplicaciones fraccionadas no proporcionan ninguna ventaja, ya que el fósforo, después de ser absorbido, tiene una gran movilidad dentro de la planta.

Para determinar la dosis de abono fosfórico que debe emplearse hay que pensar en el índice de utilización de la planta y la necesidad de asegurar una concentración suficiente del elemento durante los primeros estadios de crecimiento, cuando el fósforo del terreno todavía no está suficientemente disponible. La dosis aconsejada para la mayoría de los casos, según el tipo de terreno, puede variar de 80 a 100 kg por hectárea de P_2O_5 soluble.

A pesar de que es muy importante asegurar una concentración máxima de fósforo cerca de las raíces al comienzo de la vegetación, parece que es útil evitar su aplicación en la superficie, ya que entonces favorece el desarrollo de algas.

Los fertilizantes fosforados:

Los principales abonos fosforados que se aplican actualmente en el arrozal son: el superfosfato mineral y el fosfato biamónico.

El superfosfato contiene aproximadamente el 40-50% de sulfato de calcio con el 16-18% de P_2O_5 . El fosfato biamónico contiene el 18% de nitrógeno en forma amónica y el 46% de fósforo.

1.6.3. El abonado potásico

La cantidad de potasio exigida por la planta de arroz puede superar incluso la de nitrógeno y aumentar de acuerdo con la producción de grano que se espera. De todas maneras, las diferencias varietales en la absorción de potasio son apreciables.

El ritmo de absorción de potasio es paralelo al de nitrógeno durante la fase de crecimiento y, en consecuencia, hay que asegurar la disponibilidad durante todo el ciclo de cultivo.

La disponibilidad de potasio es importante al inicio del período vegetativo y durante la fase de ahijado, cuando se determina el número de panículas. En la fase de llenado del grano, el potasio se encarga de la síntesis y traslado de los hidratos de carbono y, por lo tanto, aumenta el peso unitario de las semillas y mejora el rendimiento en la elaboración industrial de los granos enteros. El efecto favorable del potasio sobre las características cualitativas del producto comercial se aprecia sobre todo en aquellos tipos de arroz de grano largo y cristalino.

Por otro lado, el potasio tiene una importante función en el aumento de la resistencia frente a las enfermedades y a las condiciones ambientales adversas. El potasio asimilado por la planta del arroz se acumula preferentemente en las hojas y en el tallo. Las hojas, cuando llegan a la madurez, contienen aproximadamente el 2% de K. Esto hace que la práctica de enterrar pajas en el arrozal sea bastante útil para devolver al suelo gran parte del potasio extraído para el cultivo. En consecuencia, como resultado de la intensificación del cultivo y del aumento de la extracción, la cantidad de potasio exigida por las variedades de arroz mejoradas y áltamente productivas es sensiblemente superior a la exigida por las variedades tradicionales.

El potasio puede suministrarse bajo la forma de cloruro potásico (60 o 40% de K_2O) o de sulfato potásico (50% de K_2O). Ambos compuestos están disponibles bajo la forma de complejos binarios o ternarios, el uso de los cuales ha permitido extender la aplicación del potasio en el arrozal. Desde el punto de vista fisiológico no hay diferencias significativas en la eficacia nutritiva de las dos formas de potasio. Según la producción prevista, y la variedad cultivada, la dosis de potasio varía entre los 100 y 180 kg/ha de K_2O . En cualquier caso, las dosis de uso han de estar establecidas de acuerdo con el contenido presente en el terreno, al igual que pasa con la cantidad de abonos nitrogenados utilizados.

Las modalidades de aplicación deben tener en cuenta la curva de absorción durante el desarrollo de la planta y la naturaleza del terreno. En terrenos de textura fina, dotados de una capacidad elevada de intercambio catiónico, el potasio suministrado a la planta es retenido por el terreno y liberado gradualmente a la planta durante el ciclo vital. En los terrenos con una capacidad de intercambio catiónico reducida (terrenos ligeros y areniscos), es fácil que el potasio distribuido en la plantación sea arrastrado por el agua de filtración y no sea absorbido por las raíces.

En estos casos, deben hacerse dos aplicaciones de potasio: 50% en la plantación y 50% de cobertura, ya en una fase avanzada.

1.6.4. Los elementos secundarios y los microelementos

El silicio, junto con el magnesio y el azufre, es uno de los elementos más útiles para el arroz.

El magnesio, con el calcio, aumenta la acción coloidal del terreno y la capacidad de intercambio catiónica.

El azufre se absorbe en cantidades próximas a los 7-8 kg/ha de S.

Con respecto a los microelementos, solo se conoce la utilidad del zinc, hierro y manganeso por los efectos que produce su carencia en la planta.

La carencia más acusada está producida por el zinc, particularmente en los terrenos que se mantienen mucho tiempo inundado, cuando el pH alcanza un valor superior a 8 o cuando es menor su disponibilidad por formar parte de los complejos orgánicos o ser absorbido por el carbonato de calcio o magnesio.

La clorosis, efecto de su carencia, puede destruir las plantas embrionarias 4-6 semanas después de la siembra.

Para corregir su ocasional carencia se puede emplear sulfato de zinc antes de la siembra. Si se trata de carencias tardías se realizan aplicaciones foliares con el mismo producto.

La demanda de manganeso por la planta de arroz es mayor que la se verifica en el trigo o la cebada. La disponibilidad en el suelo disminuye al aumentar el pH. Su eventual carencia puede ser corregida mediante la distribución de sulfato de manganeso o con pulverizaciones foliares al 0.1-0.2% de una solución de cloruro o sulfato de manganeso.

La deficiencia del hierro es consecuencia, como la del manganeso, de la reducción de su disponibilidad en los terrenos alcalinos.

1.7. MANEJO DEL AGUA

Con esta expresión se quiere comentar el concepto de la utilización racional del agua de riego en las condiciones de cultivo españolas: dar al agua un empleo adecuado según programas que respondan a las necesidades establecidas y a los fines deseados.

Después de la entrada del agua en el arrozal, al término de la preparación del terreno, no es conveniente esperar mucho tiempo para realizar

la siembra. El agua y las temperaturas altas que se producen en esta época favorecen la vegetación de las criptógamas parásitas, de las algas y la reproducción de los insectos; por consiguiente, esperando y retrasando la siembra se pondrá la semilla en un ambiente en el que los parásitos ya se han reproducido y desarrollado.

La temperatura óptima del agua para la germinación se sitúa en torno a los 22-25°C.

En el caso de temperaturas del aire bajas (menores de 12-15° C), es conveniente mantener una capa de agua menor de 10 cm de profundidad, y cuya circulación sea tanto menor, e incluso estanca, cuanto más fríos se encuentren el agua utilizada y el aire. La disminución de la corriente de agua favorecerá el aumento de la temperatura del agua, a consecuencia de la acción del sol y de las fermentaciones de las materias orgánicas presentes en el terreno.

Cuando la profundidad de la capa sea demasiado alta, el agua caliente subirá a la superficie, mientras que a nivel del suelo se situará la más fría.

En condiciones normales, el riego del arrozal y el manejo agua puede seguir la siguiente metodología:

- 1) Entrada del agua hasta un nivel mínimo de inundación: 5-6 cm.
- 2) Proceder al pequeño desmonte de tierras sólo en las zonas donde sea necesario por la falta de agua y a la compactación en los terrenos excesivamente permeables; el excesivo desmenuzamiento del barro del arrozal disminuye o impide la profundización de las raíces en el suelo; esto provoca que la planta embrionaria, bajo el empuje de las olas producidas por el viento, se separe del terreno, flote sobre la superficie del agua y termine amontonándose en los márgenes en cantidades bastante importantes; de otro modo se hunde en las rodadas del tractor o, apropiadamente, queda retenida en

los surcos convenientemente producidos por medio del perfil de la hoja niveladora.

3) Suministrar agua hasta conseguir una capa de agua de 5-10 cm, y seguidamente se siembra.

4) Hacer fluir lentamente el agua, para que durante 10-20 días, se mantenga un nivel mínimo de la misma, hasta el punto de que el terreno casi asome por la superficie.

5) Transcurridos los 15-20 días, proceder a la desecación de arraigo (aixugó); en este momento realizar un tratamiento herbicida.

6) Restablecer el nivel del agua, 3-8 días después del comienzo de la desecación, hasta los 5-10 cm de profundidad de la capa.

7) Después de un periodo de 15-20 días más tarde, proceder a un nuevo desecamiento y realizar un nuevo tratamiento herbicida e insecticida, si es necesario.

8) Sucesivamente, el nivel se mantendrá entre los 10-15 cm hasta el momento de la desecación definitiva pocos días antes de la recolección.

Las variedades susceptibles al encamado, como también las que manifiestan una capacidad pequeña para el crecimiento, mejoran estas características cuando, y si en el mes de junio o julio, se realiza una desecación del arrozal durante 10-15 días; en caso contrario, donde no sea posible, es conveniente mantener constantemente una ligera capa de agua.

1.8. SIEMBRA, RECOLECCION Y SECADO DEL ARROZ CASCARA

1.8.1. Siembra

En primer lugar, hay que destacar que el uso de semilla certificada se impone en un cultivo racional del arroz. Con ello garantizamos un óptimo comienzo del cultivo al estar garantizado el poder germinativo, y además, evitamos la posible propagación de plantas de arroz rojo y de malas hierbas que pudiera llevar una semilla no certificada.

Se ha dicho que la semilla alberga parásitos fúngicos de diferente género y especie cuya acción se manifiesta, en algunos casos, con la disminución de las capacidades germinativas. Para prevenir el daño y reducir la acción negativa de los hongos en el suelo es necesario desinfectar la semilla. Este tratamiento lo puede realizar la empresa de semilla cuando se considere oportuno o previa solicitud del cliente. Si lo tiene que realizar el agricultor los mejores resultados se obtienen con un tratamiento dos días antes de la siembra, cuando se inicia la pregerminación de la semilla.

El remojo de la semilla en agua, antes de la siembra, se realiza para alcanzar diversos objetivos:

- a) hacer más pesada la semilla para que caiga sobre el suelo y no quede flotando en la superficie del agua;
- b) acelerar la germinación de la semilla;
- c) realizar de forma más adecuada, el tratamiento con productos químicos, utilizados para la lucha preventiva contra las criptógamas, algas e insectos, en el interior de la tolva de la sembradora.

Si la semilla se pone a remojo en sacos, una vez que alcanza la saturación, empieza a germinar, pero pierde rápidamente su vigor por la falta de oxígeno en el interior de la masa.

Antes de esparcir la semilla es conveniente extraer los sacos del agua y escurrirlos; de esta manera la semilla se calienta por el efecto de los procesos germinativos iniciales, y la germinación se acelera en campo.

La siembra se debe llevar a cabo cuando la longitud del coleóptilo no sobrepasa los 2-3 mm; por encima de este límite, un porcentaje de semilla se lesiona más o menos gravemente durante su distribución, perdiendo las ventajas derivadas de esta práctica.

La siembra a voleo con el terreno previamente inundado es la práctica más generalizada y casi exclusiva; los otros métodos se utilizan con escasa frecuencia, en zonas y situaciones particulares o como consecuencia de iniciativas de carácter experimental.

La siembra se realiza mediante el empleo de abonadoras centrífugas suspendidas. Los resultados han sido sorprendentes, puesto que la capacidad de trabajo de dichas máquinas en función de una anchura de trabajo de 12-13 metros, es muy elevada. En los campos de cierta extensión, se alcanzan y tal vez se superan las tres hectáreas de trabajo efectivo por hora.

De todas maneras, hay que tener en cuenta que la energía necesaria para su uso debe llegar directamente sincronizada con el motor y hay que fijar un régimen determinado del motor que se mantiene constante, mediante el control de la indicación del taquímetro durante la operación de distribución.

Como consecuencia de este planteamiento, manteniendo el mismo régimen del motor, el órgano de distribución conserva también una velocidad de rotación constante, resultando invariable la anchura de trabajo de la máquina.

La cantidad de semilla a emplear depende de numerosos factores que no son siempre fácilmente evaluables: el poder germinativo, la capacidad de ahijamiento, número de tallos fértiles, etc. Normalmente pueden ser suficientes 140-150 kg por hectárea de semilla, cuando se trata de variedades de grano redondo y pequeño, y 170-190 kg para los otros tipos varietales. En condiciones precarias para la germinación, pueden ser indispensables 230-250 kg.

1.8.2. Recolección y secado

La elección del momento adecuado para la siega con la cosechadora tiene una gran importancia para conseguir una buena producción y una superior calidad y rendimiento en la elaboración del arroz blanco.

Cuando la recolección se anticipa demasiado respecto al límite óptimo teórico de la maduración, aumenta el porcentaje de cariósides verdes y disminuye la producción y calidad del arroz, porque una parte de las reservas del tallo y hojas no ha llegado todavía al fruto: las cariósides inmaduras originarán un producto elaborado defectuoso.

De forma inversa, el retraso de la recolección origina pérdidas productivas y cualitativas por la mayor cantidad de roturas de los granos y la mayor probabilidad de desgrane antes de la siega; el oscurecimiento de las capas del pericarpio causa la depreciación del producto: además, los mayores daños derivados del encamado y las enfermedades puede influir en el rendimiento del cultivo.

La recolección del arroz se realiza mediante cosechadora autopropulsada. Estas maquinas adaptadas a la recolección de cereales Y, en especial, a la del arroz realizan las labores de recogida, trilla y almacenamiento previo del arroz cáscara. Estas máquinas deben disponer de la potencia

suficiente, de unas semi-orugas con el fin de poder desplazarse por el terreno de cultivo sin excesiva dificultad y una tolva que garantice una cierta autonomía.

El contenido de humedad del arroz bruto debe ser menor del 14% antes de que pueda almacenarse con seguridad. El arroz se cosecha normalmente a un contenido de humedad del 20% o más. Si el contenido de humedad no disminuye por debajo del límite antes fijado, poco después de la trilla, la calidad del grano disminuye debido a la actividad microbiana o a los daños causados por insectos.

Para reducir el contenido de humedad se utiliza el secado artificial por convección. Para ello se calienta el aire lo suficiente para disminuir su humedad relativa, y a continuación, se hace pasar este aire a través de una capa de grano, absorbiendo la humedad excesiva del mismo.

1.9. ACCIDENTES, PLAGAS, ENFERMEDADES Y MALAS HIERBAS DEL ARROZAL

Entre los primeros está el encamado, que puede tener por causa los vientos, las tormentas. El nitrógeno aportado juega junto con la variedad cultivada un papel importante, en la aparición de este accidente.

El fallado es la formación defectuosa del grano y afecta a toda la panícula o parte de ella. Aunque puede ser causado según algunos autores por virus, normalmente puede ocurrir por exceso de salinidad, escasez de agua de riego, respiración defectuosa, temperaturas anormales, desequilibrios nutricionales y ataques criptogámicos.

Entre las plagas del arroz están:

- Los mosquitos de los plántulos de arroz, dípteros de los *Orthocladus* y *Chironomus*. Producen fallos.
- En terreno definitivo son frecuentes los ataques de *Chilo suppressalis*, o barrenador del arroz, lepidóptero que hace galerías a lo largo del tallo. Tiene dos generaciones al año y pasa el invierno entre los restos de arroz. Se combate mediante confusión sexual.
- El grano de arroz puede ser atacado por un chinche, *Eusarcoris inconspicuus*, que produce una succión en los granos, dejándolos arrugados.
- El arroz también es atacado por polillas de los graneros, así como por los gorgojos de los graneros (*Calandra oryzae*).

Las enfermedades que se pueden apreciar en el arroz son:

- *Pyricularia oryzae*, que produce necrosis en los tallos y hojas. Cuando ataca al nudo basal de la panícula produce fallado del grano, e incluso puede originar una merma total de la producción. La resistencia genética varietal es un eficaz medio de lucha.
- *Helminthosporium oryzae*, que provoca manchas alargadas en las hojas.

Las principales malas hierbas infestantes del arrozal son:

- *Echinochloa crus-galli* L: Tiene una panícula bastante compacta, más o menos erecta, ramificada, con disposición alterna de las raquillas; las hojas son lineales y ásperas en los márgenes o sobre la superficie del limbo. Nervio central más o menos marcado en el envés.
- *Echinochloa crus-galli*, subsp. *hispidula* (Poll.): Se distingue por el porte siempre erecto de la panícula que es bastante compacta: de

aspecto piramidal, con las ramificaciones de la inflorescencia verticiladas.

- *Echinochloa oryzicola* (Stapf.): Se diferencia de los otros especialmente porque tiene el margen de la vaina foliar en la parte marginal, provisto de pelos hialinos.
- *Echinochloa colonum* (Link.): Tallos rígidos y extendidos, con tonalidades rojizas, formando macolla muy abierta, con más ahijamiento y ramificaciones que *E. crus-galli*.

Todas las especies de *Echinochloa* se caracterizan y difieren del arroz por la ausencia de lígula y aurícula.

- *Cyperus difformis* L: Se reconoce por el tallo triangular y las inflorescencias de color castaño oscuro, globulosas, dispuestas en antelas cortas. Se reproduce por semilla.
- *Scirpus maritimus* L: Es una planta perenne que se multiplica por semilla o por los numerosos rizomas tuberosos de color castaño, unidos por estolones blancos. Tiene el tallo erecto, triangular, hojas lineales y flores de color pardo-rojizo, grandes, reunidas en glomerulos pedunculados, ovoideos, comprimidos.
- *Scirpus mucronatus* L: Planta anual de raíz fasciculada, con el tallo erecto, triangular, sin nudos, de caras acanaladas. Las espiguillas son pardo rojizas, agrupadas en un haz sesil en forma de estrella, en la cima del tallo, con una bráctea debajo, en principio erecta, y después formando con el tallo un ángulo casi recto.
- *Alisma plantago* L: Es una planta perenne que se multiplica por semilla y también por rizoma, blanco y tuberoso. Las hojas son basales; las primeras en formarse son sesiles y lineales, las sucesivas son

pecioladas. Las flores blancas están agrupadas en una panícula grande, erecta, larga, piramidal, con verticilos espaciados.

- *Potamogeton natans* L: Planta acuática, robusta, vivaz con rizomas; tallos sumergidos o flotantes; las hojas inferiores están sumergidas, con el limbo lanceolado, caduco y peciolo persistente; las superiores, flotantes, coriáceas, de forma lanceolada-oval y largas.
- *Oryza sativa* L.: Se trata de las plantas de arroz cuya semilla presenta una coloración rojiza, denominándose "arroz rojo", "rebordonit" o "arroz salvaje" y que constituye una mala hierba del cultivo.

1.10. MEJORA GENÉTICA

El "fenotipo" es la expresión última del "genotipo". En consecuencia, es el objeto de la medición y la base misma de la selección. En una interpretación simplificada del fenotipo, podría sugerirse que éste es el resultante de los efectos conjuntos (idealmente independientes) del genotipo y el ambiente. El mejorador se interesa en identificar los mejores fenotipos de la población, en armonía con su objetivo de selección (por ejemplo, rendimiento). La selección de los mejores fenotipos de la población implica no sólo la probable selección de los mejores genotipos (lo que es objetivo del seleccionador), sino también la de los mejores ambientes de expresión, y las interacciones de genotipos y ambientes particulares favorables a la expresión del carácter en cuestión (Mariotti, 1986).

El conocimiento de las interacciones entre el tipo de planta, la habilidad para alto rendimiento y la competencia, así como también, la interacción genotipo por ambiente, ha conducido a los programas de mejoramiento a

modificar o combinar los métodos de selección para adecuarlos a las condiciones particulares. Los investigadores en arroz, deben estudiar y determinar los sistemas de producción hacia los cuales están enfocando su investigación y mejoramiento varietal. El ecosistema de producción define el tipo de planta de mayor utilidad (Jennings *et al*, 1981).

El principal objetivo del mejorador de plantas es efectuar cambios favorables en la frecuencia de los genes, produciendo un máximo de ganancia genética dentro del material a mejorar; así a través del conocimiento de la magnitud relativa de la interacción genotipo por ambiente ($G \times A$) se puede obtener el número óptimo de repeticiones, localidades y años para ensayos de competencia maximizando las ganancias genéticas por selección (Nakano, 1990).

Esta circunstancia necesita el desarrollo de diseños de selección capaces de manejar material de selección replicante y no replicante. Las teorías acerca del diseño experimental y los análisis de la varianza se basan en la asunción de la selección de muestras aleatorias. Fisher, RA (1931) propuso 3 principios en la realización de ensayos de campo:

- a) repetición,
- b) aleatorización,
- c) control de las condiciones ambientales.

Muchos mejoradores seleccionan cultivares que se comporten bien en un amplio rango de ambientes; sin embargo, la identificación de tales cultivares con una amplia estabilidad o adaptabilidad comienza a ser difícil cuando la respuesta fenotípica a los cambios en el ambiente varía a través de los fenotipos que se están evaluando. Según Comstock y Moll (1963) la interacción ($G \times A$) puede reducir el progreso de la selección y puede causar dificultades en la identificación de cultivares superiores.

La selección dirigida es el procedimiento más eficaz para impulsar el progreso genético, aunque quizás sea también la instancia más crítica en el proceso del mejoramiento genético de las plantas.

Los diferentes métodos de selección en poblaciones segregantes de arroz están enfocados en aquellas generaciones donde se hace primero la selección para rendimiento, y donde la competencia entre plantas afecta ese potencial (Ntanos y Roupakias, 2001). Nagai (1962, citado por Ntanos y Roupakias 2001) señaló que la selección rigurosa por pedigrí en generaciones tempranas de arroz puede originar pérdidas de genotipos deseables, los cuales se podrían seleccionar en generaciones posteriores como líneas homocigotas. También, Sakai (1951, citado por Ntanos y Roupakias 2001) menciona que la competencia entre individuos en una población segregante es considerable y que disminuye la confiabilidad de la selección; por ello, este autor considera que la selección masal es más efectiva que la selección por pedigrí. De Pauw y Shebeski (1973) encontraron que la selección de plantas individuales en generaciones tempranas fue efectiva para caracteres cualitativos en trigo (*Triticum aestivum* L.) e inefectiva para caracteres cuantitativos tales como rendimiento de grano. Esto fue confirmado en cebada (*Hordeum vulgare* L.) por Hanson *et al* (1979, citado por Ntanos y Roupakias 2001). Simmonds (1979) reporta que la selección clásica por pedigrí fue efectiva en generaciones tempranas (bajo competencia) solamente para caracteres de alta heredabilidad como el tamaño de grano. Este hecho está en contraposición con Mckenzie y Lambert (1961) y Sneepe (1977) que sugieren que la selección para genotipos de alto rendimiento debe ser hecha en la generación F₂ y en las generaciones segregantes posteriores. Adicionalmente, Mitchell *et al* (1982), Lungu *et al* (1987), Roupakias *et al* (1997) obtienen selecciones exitosas para rendimiento en poblaciones F₂ de trigo duro (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), trigo de

primavera, haba (*Vicia faba* L.) y algodón (*Gossypium hirsutum* L.) respectivamente, cuando las plantas se desarrollaron en un diseño "panal de abejas". Fasoulas y Fasoulas (1995) encontraron que la selección por pedigrí en un diseño "panal de abejas" a baja densidad en una población, es efectiva para los caracteres rendimiento y calidad de grano.

Yonezawa (1997) opina que el método más eficiente para evaluar la capacidad de rendimiento en generaciones segregantes es probablemente la evaluación visual tradicional para el tipo de planta y los componentes de rendimiento. Sin embargo, en judía común (*Phaseolus vulgaris* L.), la selección visual para rendimiento de semilla en plantas individuales F₂ y progenies por surcos de F₃, no fue efectiva (Patiño y Singh, 1989); mientras que, la producción de grano *per se*, a través del rendimiento de semilla y sus componentes fue el criterio de selección más efectivo (Nienhuis y Singh, 1988b).

La selección en generaciones tempranas está basada en los caracteres cualitativos que tienen alta heredabilidad y son fáciles de medir y evaluar. Estos caracteres, no solo incluyen características morfológicas, las cuales son controladas por genes mayores, sino también algunos caracteres poligénicos, que pueden ser evaluados y son altamente heredables tales como: índice de cosecha, días a floración, longitud del tallo, tipo y vigor de planta. En las poblaciones segregantes hechas con parentales divergentes, la selección visual también puede ser efectiva para los componentes de rendimiento: tipo y tamaño de panícula, número y tamaño de granos por panícula y fertilidad del grano (Yonezawa, 1997). En la generación F₂ aparecen repetidamente el tipo de planta "deseable"; para ello, debe sembrarse en un ambiente óptimo donde la variación genética sea máxima y puedan identificarse este tipo de plantas. Jennings *et al* (1981) propusieron que las plantas F₂ consideradas adecuadas

para el sistema arroz riego deben poseer: buen vigor inicial y de planta, alta capacidad efectiva de ahijamiento, alto índice de cosecha, uniformidad en altura y floración, tallos fuertes y flexibles, hojas cortas, erectas y con senescencia retardada y panículas pesadas, fértiles y con buena excersión. En estudios realizados por el International Rice Research Institute (IRRI) (1974) mostraron que hay diferencias varietales en el tipo de planta al seleccionar bajo diferentes regímenes de humedad ó patrones de lluvia. Las plantas de las líneas F₅ seleccionadas en seco tendieron a ser altas, con baja capacidad de ahijamiento, relativamente pocas hojas, de color verde pálido, con panículas largas y maduración temprana; mientras que, las seleccionadas en riego presentaron alta capacidad de ahijamiento, altura intermedia, muchas hojas verdes oscuras, tardías y con panículas cortas.

La eficacia en la mejora genética está determinada principalmente por la habilidad para evaluar objetivamente el mayor número de líneas de ensayo, basándose en los resultados productivos obtenidos indicados en los valores de la media, y suponiendo la estabilidad de los resultados de cada línea reflejada en las varianzas obtenidas. El error experimental se define como la diferencia entre los valores observados en cada parcela elemental y los realmente existentes dentro de cada línea de ensayo. Cuanto mayor sea el error experimental, menores serán las posibilidades de detectar diferencias entre las líneas. Por lo tanto, el principal objetivo del análisis de la varianza, será la medida del error experimental, asumiendo que su reducción es el criterio básico para la selección de un determinado diseño (LeClerg, 1966).

Por tanto, el objetivo principal de un diseño de selección debe ser la asignación de cada parcela elemental en condiciones ambientales comparables para asegurar estimaciones fiables y válidas de las medias y las varianzas del ensayo.

Los factores principales que afectan a las varianzas son: las variaciones ambientales, la variación genética y la interacción genotipo x ambiente. Solo cuando estos 3 factores están controlados, se pueden considerar como válidas tanto las medias como las varianzas obtenidas.

La variación ambiental se aprovecha efectivamente si el diseño experimental asegura que la totalidad de las líneas quedan expuestas a las mismas condiciones. Cuando esto ocurre, la diferencia en las varianzas entre líneas refleja diferencias en la estabilidad del rendimiento que el mejorador trata de explotar.

En resumen, el criterio básico para la elección de un diseño de selección debe ser, su capacidad para poder efectuar un muestreo efectivo dentro de unas condiciones ambientales heterogéneas y asegurar unas condiciones de cultivo comparables, tanto para un gran número de líneas, como para las parcelas elementales dentro de cada línea.

Esto permite una explotación eficiente de la heterogeneidad del suelo y la selección exitosa de genotipos caracterizados por rendimientos productivos elevados y estables.

La disposición de las líneas en bloques al azar con repeticiones se sugirió como una medida de contrarrestar la heterogeneidad del suelo en los ensayos. En los ensayos de campo, la unidad de evaluación y selección es la parcela elemental.

Teóricamente, los diseños en bloques completos, como por ejemplo, el diseño en bloques al azar o el diseño en cuadrado latino son aplicables a experimentos con un determinado número de líneas. Sin embargo, estos diseños en bloques completos son menos eficientes conforme el número de líneas en el ensayo se incrementa debido en parte a que el tamaño de los bloques se incrementa proporcionalmente al número de líneas y, por otra parte, la

homogeneidad de las parcelas elementales dentro de un bloque de grandes dimensiones es difícil de mantener. Esto significa que el error experimental de un diseño en bloques completos se incrementa conforme aumenta el número de líneas del ensayo (Gomez, KA y Gomez AA, 1984).

Un conjunto de diseños experimentales alternativo cuando se tiene un gran número de líneas es el diseño en bloques incompletos. Tal y como su nombre indica, cada bloque en un diseño en bloques incompletos no contiene todas las líneas, y se puede mantener un tamaño pequeño de bloque, aunque el número de líneas del ensayo sea grande. Cuando se emplean bloques pequeños, la homogeneidad entre las líneas de ensayo dentro del mismo bloque es fácil de mantener y cabe esperar un elevado grado de precisión. Esta mejora de la precisión, no obstante, conlleva algunos inconvenientes (Gomez, KA y Gomez AA, 1984). Los principales son:

- El número de líneas o repeticiones es fijo,
- Existen diferencias en los grados de precisión en la comparación entre medias,
- El análisis de los datos es complejo.

En general, un diseño de bloques incompletos con bloques de reducido tamaño, consigue obtener mayor grado de precisión respecto al diseño en bloques completos. Por esto, el uso de diseños de bloques incompletos suele preferirse a pesar de los inconvenientes. Dentro de este grupo, el diseño en retícula (lattice) es el diseño más comúnmente utilizado. Este tiene una flexibilidad de uso suficiente para permitir una aplicación sencilla (Gomez, KA y Gomez AA, 1984). La condición requerida es que el número de tratamientos implicados debe ser un cuadrado perfecto, como por ejemplo: 5^2 o 25, 6^2 o 36, 10^2 o 100, 11^2 o 121. Los dos diseños en lattice más utilizados incluyen diseños equilibrados, y diseños parcialmente equilibrados. La diferencia entre ambos se

da en el número de repeticiones. En el caso de diseños equilibrados, el tamaño de los bloques es igual a la raíz cuadrada del número total de tratamientos y el número de repeticiones requerido es una más que el tamaño de bloque. Por ejemplo, en un diseño con 5^2 tratamientos (25), el número de repeticiones es de 6. En los diseños parcialmente equilibrados, por el contrario, se puede utilizar cualquier número de repeticiones.

La superior eficiencia del diseño en lattice se ha comparado en multitud de estudios frente al diseño en bloques completos (Atwood & Garber, 1942; Myers, 1942; Zuber, 1942; Jonson & Murphy, 1943; Wellhausen, 1943; Lin et al., 1993 Saad, 1994a, b).

Raza and Masood (2009) concluyeron una mayor precisión de los experimentos y un menor coeficiente de variación en el diseño en lattice al comparar 3 poblaciones mediante un diseño en bloques completos al azar y un diseño en lattice.

Otro método de selección diseñado por Faoulas, A.C. (1988) es el diseño en panal de abeja (Honeycomb Selection Design). Este sitúa cada planta en un patrón hexagonal para asegurar más posiciones por unidad de área, y forma repeticiones móviles donde cada planta ocupa el centro de cada una de ellas. De esa manera, se tiene una aleatorización máxima respecto de las condiciones ambientales. Este método se basa en seis pilares:

- a) evaluación en ausencia de competencia entre plantas,
- b) aumento de la fijación de genes,
- c) ensayo en ambientes diferentes,
- d) utilización de diseños en panal de abeja,
- e) análisis de componentes de rendimiento,
- f) mejora continua del rendimiento.

Danos (1998) realizó la selección de la variedad de arroz “Olympiad” mediante el método de selección en panal de abeja, frente a la selección genealógica. Esta variedad, tras su obtención, fue ensayada durante dos años (1994-1996) en ensayos en bloques al azar, y en diferentes localizaciones, superando en un 8% de rendimiento al parental más productivo.

Definimos condiciones de cultivo aisladas cuando el marco de plantación es lo suficientemente grande como para evitar cualquier interferencia entre plantas. El termino plantas espaciadas en campo es vago y no representa un entorno aislado.

Donald y Hamblin (1976) clasificaban los ecosistemas de cultivo en 3 categorías:

- Entorno aislado, donde un marco de plantación amplio excluye cualquier interferencia planta a planta,
- Entorno competitivo, compuesto por interacciones entre genotipos diferentes,
- Entornos cultivados, compuestos por interacciones entre genotipos idénticos.

Como conclusión de sus estudios, afirmaban que cada genotipo se adaptaba de forma favorable a cada uno de los ambientes.

Falconer (1981) expresó la ecuación general de la respuesta esperada a la selección directa como $R = i * h^2 * \sigma_p$, donde i es la intensidad de selección (número de desviaciones estándar en que la media de las plantas seleccionadas excede la media de la población), h^2 es la heredabilidad (grado de transmisibilidad del fenotipo seleccionado) y σ_p es la desviación estándar fenotípica de la población. Según esta ecuación, la ganancia genética por generación de selección aumenta cuando:

- Se seleccionan el menor número posible de plantas para la reproducción (mayor i),
- Se asegura que la superioridad fenotípica de las plantas seleccionadas es heredable (elevada h^2),
- Se establecen condiciones de ensayo que aumenten la diferenciación fenotípica (elevado σ_p)

La desviación estándar fenotípica refleja la magnitud de las diferencias fenotípicas entre plantas individuales, o las condiciones donde la superioridad genotípica alcanza la óptima expresión fenotípica. Las condiciones de crecimiento afectan a este parámetro, siendo la más importante el marco de plantación (Fasoulas, A.C., 1988).

Una manera de estudiar los efectos de la competencia en la respuesta a la selección puede ser el estudio del grado de afección sobre los 3 parámetros de la ecuación. Kyriakou y Fasoulas (1985) analizaron la distribución en las frecuencias productivas de una población no seleccionada de centeno cultivada en presencia (15 x 15 cm) y ausencia de competencia (90 x 90 cm) entre plantas en la misma parcela. Los resultados obtenidos indican que para el cultivo aislado entre plantas, el valor del CV es menor (33%) respecto al cultivo de plantas en competencia (53%). Aparentemente, la maximización de la diferenciación fenotípica al incrementar el marco de plantación elimina los efectos perturbadores de la densidad y competencia entre plantas, y que son mayores que los efectos de la heterogeneidad del suelo. Además, la distribución normal de los resultados obtenidos es amplia para las plantas cultivadas en ausencia de interferencia, mientras que la distribución es fuertemente sesgada para las plantas cultivadas en presencia de competencia entre ellas. Por otra parte, si se compara la desviación estándar, se observa que esta es 4,8 veces mayor en la población cultivada en condiciones de aislamiento, por lo que la

ganancia en la selección a rendimiento según la ecuación general de respuesta se supone que será 4,8 veces mayor en estas condiciones, tal y como se indica en la figura 4.

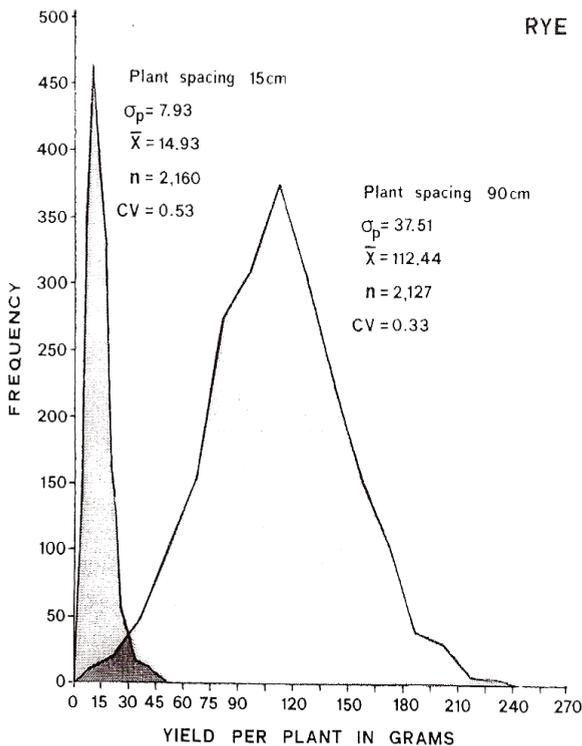


Figura 4. Comparativa de los valores estadísticos obtenidos entre un ensayo realizado en condiciones de competencia entre plantas y otro realizado en condiciones de no competencia. Kyriakou y Fasoulas (1985).

Estudios realizados por Lin *et al* (1971) sobre el rendimiento de vainas de cacahuate en poblaciones masales F5 indicaron que, tanto la heredabilidad como el avance genético, se incrementa linealmente conforme aumenta el

marco de plantación. Al incrementar dicho marco a 116 x 140 cm, Gibori et al (1978) obtuvieron un aumento en la heredabilidad de la producción de vainas de cacahuete en la generación F2 ($h^2=0,79$) hasta el punto de sugerir la selección visual de las plantas más prometedoras en estas poblaciones F2. Los resultados mencionados indican que la ausencia de competencia entre plantas es la llave para aumentar la heredabilidad (h^2) y la desviación estándar (σ_p).

Fasoula (1988) estudió el efecto de genes perjudiciales sobre el rendimiento en un marco de plantación aislado llegando a la conclusión que el rendimiento era realmente afectado por la presencia de dichos genes y que este efecto se podía cuantificar por el coeficiente de variación (CV). Cuanto mayor sea este, mayor será la desviación de la media hacia los rendimientos menores. Por el contrario, cuanto menor es el CV, más favorables son las interacciones de genes entre las líneas y más estables son las mismas. Evidentemente, cuando las líneas se evalúan en un marco de plantación que permite la nula interacción entre plantas (condiciones de aislamiento) en condiciones comparables como es el caso de los diseños experimentales, entonces las diferencias en el CV cuantifican las interacciones entre genes y permiten la realización de la selección atendiendo a la estabilidad.

Por lo tanto, un CV bajo refleja una interacción entre genes favorable y un incremento en producción y estabilidad. Como el nivel productivo no puede ignorarse en comparaciones entre líneas, Fasoula-Ioannides (1995) propuso un criterio combinado de selección que permite simultáneamente la selección según el rendimiento y la estabilidad desde las generaciones tempranas: $CC = X^2 (1-CV)/CV$ o $CC = X^2 (X-s)/s$.

Según Fasoula D.A. y Fasoula V.A. (1997), la principal ventaja de la evaluación y selección en condiciones de cultivo aisladas entre plantas es la optimización de la heredabilidad de las plantas para caracteres cuantitativos.

Esto permite la selección directa y simultánea para rendimiento, estabilidad y calidad en todas las fases de un programa de mejora. En conjunto, las ventajas del método pueden resumirse en las siguientes:

- El sistema de cultivo en marco de plantación que permita el aislamiento entre plantas representa las condiciones ideales en las que no hay interferencias entre plantas en igualdad de recursos.
- Anula la reducción de la heredabilidad que la correlación negativa entre el rendimiento y la habilidad competitiva entre plantas ejerce sobre los caracteres cuantitativos, facilitando la aplicación de una elevada presión de selección.
- Maximiza la expresión fenotípica y la diferenciación de todos los caracteres, especialmente aquellos que contribuyen al desarrollo individual. Esto permite la selección directa de la estabilidad del rendimiento durante las primeras generaciones segregantes y reduce el tiempo necesario para el desarrollo y obtención de una nueva variedad.
- Reducción del coeficiente de variación del rendimiento por planta comparado con un diseño que permite la competencia entre plantas minimizando indeseables variaciones aleatorias.
- Aumenta la fijación de genes que son esenciales para la respuesta a la selección desarrollando nuevas variaciones genéticas aditivas.
- Permite la cuantificación a través del coeficiente de variación de la interacción gen a gen que refleja la estabilidad de los resultados.
- Maximiza el rendimiento por planta y permite el uso de un gran número de repeticiones para explotar adecuadamente las interacciones G x E.

Los ideotipos capaces de explotar adecuadamente las condiciones de cultivo son aquellos que cuando se cultivan en condiciones aisladas y bajo distintos entornos ambientales muestran los mejores resultados en los principales caracteres: vigor, capacidad radicular, resistencia a enfermedades y tolerancia a estrés.

1.10.1. MEJORA GENÉTICA DEL ARROZ

A nivel internacional, tres centros dependientes del CGIAR (Consultive Group on International Agricultural Research) se dedican a la mejora del arroz: el IRRI (International Rice Research Institute), el WARDA (West Africa Rice Development Association) y el CIAT (Centro Internacional para la Agricultura Tropical). En España, existen programas de desarrollo de variedades de arroz en centros de investigación, como el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), en las instalaciones que posee el centro en Sueca (Departamento del Arroz). En cuanto a la iniciativa privada, las empresas productoras de semillas poseen programas propios de obtención de variedades, así como convenios de colaboración con otras obtentoras internacionales para la comercialización en España de las variedades de arroz.

Los principales hitos conseguidos en la mejora genética del arroz, comenzaron con la denominada “Revolución Verde”. Hasta mediados del siglo pasado, en las regiones arroceras asiáticas se cultivaban cientos de miles de variedades seleccionadas por los agricultores y caracterizadas por tener el porte alto, débil encamado, maduración tardía y por ser sensibles al fotoperiodo. Los rendimientos medios oscilaban entre 1-2 t/ha. Las primeras variedades de la Revolución Verde derivaban de cruzamientos entre líneas semienanas y otras muy vigorosas, lo que se traducía en un incremento del Índice de Cosecha. Posteriormente se mejoraron otros aspectos: ciclo de cultivo más corto,

resistencias, calidad del grano. En consecuencia, las variedades modernas duplican o triplican la producción de las tradicionales, además de responder mejor a las prácticas agronómicas, particularmente al abonado nitrogenado.

Después de la Revolución Verde, el IRRI comenzó a trabajar en la denominada Nueva Planta Tipo (NPT), con un índice de cosecha de 0,6 (60% grano y 40% peso de la paja).

Yuan L. (2001), definió las siguientes características de la NPT:

- a) baja capacidad de ahijamiento,
- b) pocos hijuelos improductivos,
- c) unos 200 a 250 granos por panícula,
- d) de 90 a 100 cm de altura,
- e) tallos finos y fuertes,
- f) sistema radical vigoroso,
- g) un ciclo de 100 a 130 días.

El desarrollo de NPT fue más complicado de lo pensado, e incluso en la actualidad estas plantas no han conseguido el impacto deseado en las producciones de arroz.

1.10.1.1. LÍNEAS DOBLE HAPLOIDES

En arroz a menudo se emplean como población de mapeo familias de líneas doble haploides (LDHs) que permiten al mejorador fijar sistemas genéticos de gametos individuales sin pasar por el proceso de endogamia normal, facilitando y acelerando el proceso de selección. Los métodos más usados para la obtención de LDHs pueden basarse en la fertilización interespecífica o intergenérica (vía partenogénesis o mediante la reducción cromosómica), en el cultivo de esporas masculinas (androgenesis), o en el

cultivo de esporas femeninas (ginogenesis). De los métodos señalados el más rápido y aplicable a mayor número de especies, es el del cultivo de anteras (°).

El cultivo de anteras es una técnica por medio de la cual es posible producir líneas homocigotas a partir de poblaciones segregantes, mediante el doblamiento cromosómico del polen haploide y la regeneración de plantas, en un ciclo de cultivo *in vitro*. En contraste, por los métodos estándar de mejora, normalmente se requieren seis generaciones de autofecundación para alcanzar la completa homocigosis en plantas autógamias (Lentini, 1997).

Las primeras líneas doble haploides de arroz fueron obtenidas por Niizeki y Uono en 1968. Sus resultados han demostrado un gran avance en la mejora de esta especie autógamma. A partir de ese momento, numerosos equipos han mejorado la técnica (Zapata et al., 1983; Pulver and Jennings, 1986; Guiderdoni et al., 1986; Chung., 1987; Huang et al., 1988; Zhang, 1989) hasta hacerla rutinaria en muchos programas de mejora a nivel internacional, con una considerable cantidad de variedades obtenidas.

Puesto que cada grano de polen proveniente de plantas híbridas F1 representa un gameto diferente, la población de plantas doble haploides (DH) muestra la variabilidad genética esperada en una generación F2, y la ventaja adicional de que cada individuo tendrá un genotipo homocigoto, es decir, fijado definitivamente. (Lentini, 1997).

El cultivo de anteras (CA) mejora la eficiencia de la selección, en comparación con la selección en las generaciones tempranas efectuada en el sistema de pedigrí. Tal aumento en la eficiencia ocurre tanto para caracteres cualitativos como para caracteres cuantitativos, y eso facilita la identificación de los genotipos superiores (Snape, 1989).

La selección de individuos en una población F2 es más efectiva cuando los alelos deseables son dominantes, mientras que si se trata de alelos recesivos

solamente se pueden detectar en una proporción de $(1/4)^n$. En una población de DH, por el contrario, los genotipos recesivos tienen una frecuencia mayor, esto es, $(1/2)^n$, y eso facilita la selección de genes recesivos deseables, ya que no son enmascarados por los genes dominantes.

Teóricamente, si los padres del híbrido tienen “n” pares de alelos que recombinan independientemente, la eficiencia en la selección de un genotipo homocigoto determinado, dentro de una población, es de $(1/2)^{2n}$ en el caso de mejoramiento con diploides y de $(1/2)^n$ en el caso de mejoramiento con DH. Esto sugiere que la eficiencia de la selección en el mejoramiento con DH es 2^n veces más alta que aquella del mejoramiento con diploides (Baenziger y Schaeffer, 1983).

La mayor eficiencia en la selección con CA ha permitido el desarrollo de cultivares de arroz, a partir de poblaciones de DH más pequeñas que las poblaciones normalmente requeridas al usar el método de pedigrí. Se ha estimado que, para los propósitos de selección de los genotipos deseables, son suficientes cerca de 150 plantas provenientes del CA de una F1, en lugar de 4.000 a 5.000 plantas F2 (Shen *et al.*, 1983). En el mejoramiento convencional, las líneas en generación temprana (F2 a F4) muestran diferencias fenotípicas para las cuales contribuyen los efectos aditivos de dominancia. En contraste, las líneas DH muestran solamente varianza aditiva y, por lo tanto, una alta heredabilidad debida a la ausencia de los efectos de dominancia. Así, para los propósitos de selección de los recombinantes deseados se requiere un menor número de DH en comparación con la población F2 requerida (Raina, 1989).

En las generaciones tempranas del sistema de pedigrí, la selección de caracteres cuantitativos es difícil, debido a la presencia de dominancia, a la segregación intrafamiliar y a la competencia entre plantas. Por el contrario, en el sistema DH hay ausencia de efectos de dominancia y, además, hay el doble

de la varianza aditiva entre los recombinantes de un cruzamiento con respecto a las generaciones F2 y F3, aún en caracteres con dominancia completa.

La variación ambiental entre plantas F2 es probablemente mayor que entre F3 o DH. Además, en los DH se puede incrementar el número de repeticiones con el fin de disminuir la varianza ambiental y, de esta manera, evaluar con mayor precisión el valor individual de cada DH (Snape, 1989). Por otra parte, las generaciones F3 o F4 exhiben diferencias genéticas entre individuos dentro de las parcelas, en tanto que en las parcelas DH los individuos dentro de cada línea son genéticamente idénticos, esto es, son homocigotos y homogéneos; esto facilita la selección visual de las mejores líneas en generaciones tempranas.

Según Snape (1989), en el método de pedigrí la heterocigosis y la segregación dentro de las parcelas afectan también el grado de selección de individuos de una generación a otra. Por el contrario, en las líneas DH, al ser genéticamente idénticas, la selección de individuos guarda una correlación igual a la unidad entre generaciones. Estas propiedades genéticas únicas de la población DH permiten efectuar una discriminación entre cruzamientos y entre genotipos dentro de los cruzamientos, mejor que la que se hace en generaciones tempranas obtenidas por autofecundación; por consiguiente, los DH aumentan la probabilidad de avance genético y de éxito en un programa de mejora (Griffing, 1975; Snape, 1989).

Varios estudios demuestran que la variabilidad en las características cualitativas y cuantitativas en poblaciones DH es similar a la obtenida en poblaciones derivadas por los métodos de pedigrí o de avance generacional rápido, con la ventaja adicional de que las poblaciones de DH se desarrollan en un tiempo más corto. Walsh (1974), aplicando modelos de simulación, encontró que cuando se utilizan DH en cultivos autógamos se obtiene un mayor avance

genético en la selección de caracteres con baja heredabilidad como lo es el rendimiento, en comparación con el obtenido con el sistema de pedigrí. En arroz, Courtois (1993) estudió la distribución de los parámetros genéticos (media, varianza, sesgo y curtosis) en doce caracteres cuantitativos relacionados con el rendimiento en líneas derivadas de CA y de avance generacional rápido, y encontró que ambos métodos son igualmente efectivos para producir líneas de arroz útiles en mejoramiento.

Otro aspecto que con frecuencia se cuestiona es la estabilidad y la uniformidad de las plantas obtenidas por CA. Sin embargo, investigaciones realizadas por investigadores como Ying (1986b) sugieren que más del 90% de los DH son uniformes y estables, aproximadamente un 8% presentan variaciones pequeñas en algunos caracteres de importancia agronómica, y el 0,7% presenta variaciones grandes (Raina, 1989). La estabilidad se mantiene a lo largo de varias generaciones.

En un estudio comparativo acerca de las principales características morfológicas entre una variedad obtenida por cultivo de anteras (Shirayukihime) y tres variedades obtenidas por métodos convencionales de mejora (Koshihikari, Nipponbare y Hatsushimo), se llegó a la conclusión de que la estabilidad de caracteres se puede considerar la misma en ambos tipos de variedades (Sugimoto, K 2002).

Se han realizado numerosos estudios teóricos y experimentales para definir las condiciones en las cuales la mejora con cultivo de anteras puede ser de utilidad, particularmente para el desarrollo de variedades en cultivos autógamos. Las plantas doble haploides obtenidas de cultivo de anteras son homocigotas y, por consiguiente, podrían pasar directamente a ensayos de rendimiento. Sin embargo, antes de su formación, esas plantas no han pasado por un proceso de evaluación y selección por otras características agronómicas

como resistencia a enfermedades, resistencia a insectos, calidad de grano, tolerancia a distintos problemas bióticos y abióticos, y adaptación a un ecosistema determinado. Es una situación bastante diferente a lo que ocurre con los materiales genéticos desarrollados mediante los métodos estándar de mejoramiento, como lo es el de pedigrí; estos materiales generalmente llegan a la generación F5 o F6 ya evaluados y seleccionados sobre la base de una serie de características deseables. En otras palabras, el hecho de que se obtengan líneas doble haploides no quiere decir que de por sí ellas constituyan variedades mejoradas superiores. En realidad, la población doble haploide representa el punto de partida para que el mejorador empiece su ciclo de evaluación y selección. El proceso de evaluación y selección de los doble haploides podría empezar en la generación R1 (plantas regeneradas provenientes del laboratorio). Sin embargo, como estas plantas han pasado por un gran estrés *in vitro* y luego por un proceso de aclimatación, se sugiere que en esta generación no se aplique una presión de selección fuerte. Es muy importante recordar que, como consecuencia del cultivo de anteras, en la R1 aparecen plantas con distintos niveles de ploidía (haploides, diploides, aneuploides, poliploides, etc.), las cuales presentarán diferentes grados de esterilidad y de características morfológicas. Desde el punto de vista práctico, las plantas más importantes para el mejorador son las diploides, las cuales tendrán una apariencia normal. De cada planta R1 seleccionada se debe cosechar toda la semilla por separado y, dependiendo de la cantidad de esa semilla en la generación R2, se podrán realizar evaluaciones de calidad de grano y tolerancia a plagas y enfermedades, entre otras. En esta R2 sí se puede aplicar una presión de selección alta, y las mejores líneas se pueden pasar a ensayos de rendimiento. De aquí en adelante, el proceso de evaluación y selección es idéntico al seguido en el método convencional de mejoramiento.

En la figura 5 se observa la comparación entre la mejora mediante Cultivo de anteras y la selección por pedigrí.

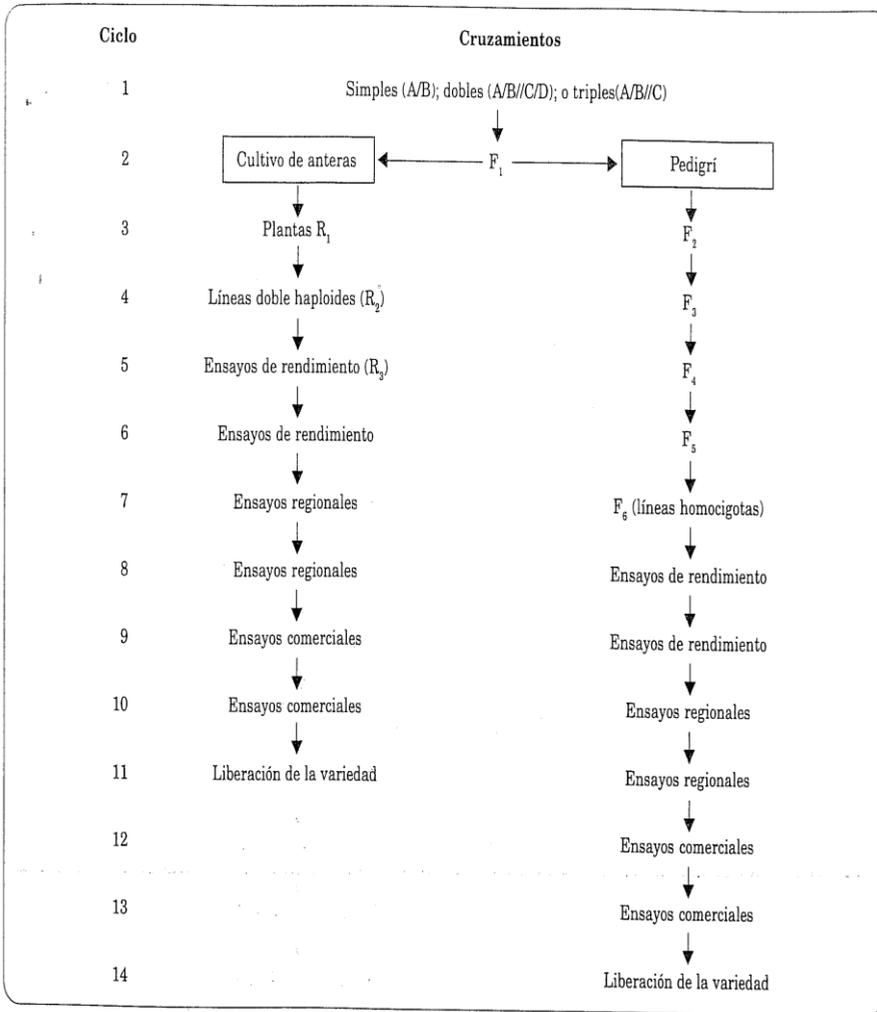


Figura 5. Esquema comparativo de selección mediante líneas doble haploides y selección genealógica.

Otro de los importantes logros obtenidos en la mejora genética del arroz fue el desarrollo de híbridos en arroz, a partir de 1980. Este tipo de variedades son cultivadas en la actualidad en muchos países como China, India y Filipinas. Otro hito ha sido el Arroz Nerica. Las desfavorables condiciones del cultivo de arroz en África limitaban su producción, de manera que el WARDA en 1991 comenzó un programa de mejora basado en el cruce de *O. sativa* y *O. glaberrima*. Las nuevas variedades desarrolladas fueron denominadas “New Rice for Africa” y, posteriormente, variedades NERICA. Los mejoras conseguidas en estas variedades frente a las tradicionales supusieron en aumento de la competencia frente a malas hierbas, desarrollo de panículas más largas con alrededor de 400 granos, aumento del rendimiento potencial, resistencia al encamado y a distintos estreses, entre otras (Guimaraes, 2009).

Finalmente, destacar que el arroz es la primera especie cultivada cuyo genoma (430 Mb, $2n= 24$), ha sido completamente secuenciado (Goff et al., 2002; Yu et al., 2002) identificándose unos 42000 genes (Guimaraes, 2009). Ello ha generado una cantidad ingente de información que ha permitido el desarrollo de herramientas moleculares que han modernizado la mejora de variedades, haciéndola dirigida y rápida.

1.10.1.2. RECURSOS FITOGENÉTICOS

Durante el inicio de la domesticación del arroz, el ser humano impuso una selección inconsciente sobre características de gran importancia, como la reducción de la caída del grano y el acortamiento de su dormición. Esta presión inicial creó el primer cuello de botella donde muchos alelos no deseados provenientes del ancestro salvaje, junto con otros potencialmente beneficiosos para el agricultor, no fueron heredados, estrechando el acervo genético del arroz cultivado (Tanksley y McCouch, 1997). Esta disminución de la

variabilidad genética fue continuada por los métodos de mejora contemporáneos, al seleccionar genotipos sobresalientes en condiciones agrícolas óptimas. En consecuencia, las subespecies indica y japónica, solo poseen alrededor del 20% y del 10% de la diversidad de sus ancestros silvestres, respectivamente (Zhu et al., 2007). Estudios con marcadores tipo microsatelite concluyeron que existe mayor diversidad entre los tipos indica que entre los japónica (Junjian et al., 2002).

La variabilidad disponible para la mejora reside fundamentalmente en los tipos silvestres y en las especies relacionadas. El éxito de la mejora de arroz se basa pues en la diversidad genética del germoplasma (solo el banco de IRRI conserva más de 108.000 entradas), tanto de cultivares y razas locales como sobre todo en las 22 especies silvestres del genero. El acervo primario de genes para el arroz comprende las dos especies cultivadas y seis silvestres con las que son compatibles los cruzamientos (*O. nivara*, *O. rufipogon*, *O. breviligulata*, *O. longistaminata*, *O. meridionalis* y *O. glumaepatula*).

1.10.1.3. OBJETIVOS DE LA MEJORA

La mejora del arroz busca nuevas fuentes de variación que permitan incrementar la resistencia a plagas y enfermedades, la tolerancia a estreses, y mejorar el rendimiento potencial y la calidad entre otras características (Aguilar-Portero et al., 2005). Normalmente, el objetivo final es la obtención de una línea pura para ser explotada como variedad comercial, aunque la posibilidad de producir variedades híbridas mediante androesterilidad (citoplásmica y nuclear) se ha traducido en programas basados en la selección hasta homocigosis de los potenciales progenitores de dichas variedades.

Mejora del rendimiento potencial

Los incrementos en el rendimiento han sido más significativos por el logro de variedades de alto rendimiento bien adaptadas a condiciones de difícil manejo que al mejoramiento de los métodos de cultivo. Las variedades nuevas tienen tallos y panículas cortas, pero en mayor número que las variedades antiguas; las diferencias también pueden encontrarse en la forma de las hojas: mientras las variedades antiguas tienen hojas largas y caídas las nuevas las tienen relativamente cortas y semi-erectas. Basado en este antecedente de mejoramiento, se desarrolló un modelo para lograr altos rendimientos conocido como la teoría del "tipo de planta" (Tsonuda *et al*, 1962), citado por Yonezawa (1997). En 1966, el Instituto Internacional de Investigación en Arroz IRRI, liberó una serie de nuevas variedades con altos rendimientos representadas en la variedad IR8, creadas de acuerdo con la teoría anterior. Estas variedades fueron la base de la "revolución verde" (Yonezawa, 1997).

En Latinoamérica, la introducción de IR8 y otras variedades nuevas a los programas de mejora, trajo como consecuencia que la base genética del arroz se redujera a 22 variedades diferentes, los cuales aportaban el 83 por ciento de la variabilidad genética (Cuevas-Pérez *et al.*, 1992). A partir de ese año, se vio la necesidad de ampliar la base genética para incrementar la producción, mediante la introducción de nuevos genes en las poblaciones.

En la selección de genotipos con alto potencial de rendimiento pueden obtenerse mínimos avances con el modelo tradicional. En tal situación el incremento en la tasa de rendimiento a través del mejoramiento decrece gradualmente. Una opción radica en crear una gran variación genética a través de cultivares y líneas que no estén relacionadas y tengan características fenotípicas con grandes diferencias; luego con la selección de esas variaciones genotípicas, las cuales son excelentes en cualquier componente de rendimiento

(granos por panícula y peso de grano) ó caracteres relacionados con el mismo (arquitectura de planta con tallos fuertes y alto número de macollas efectivas, alto vigor desde plántula), se logra llegar al nuevo tipo de planta ideal para el sistema arroz riego en el trópico (Yonezawa, 1997).

La mejora basada en la recombinación de genotipos de diferentes grupos genéticos ha sido sugerida por Sinha et al (1991) y Singh et al (1996). Iftekharruddaula et al (2002) informó que la realización de cruces entre parentales pertenecientes a grupos genéticos diferentes podía ofrecer un mayor alcance en el desarrollo de variedades de alto rendimiento productivo.

Según Rabara et al (2014), la determinación de la correlación entre las variables morfológicas es útil, ya que esta información puede utilizarse para la elección de los mejores parentales en los programas de mejora.

Shaibu A.A. y Maji A.T. (2012) obtuvieron coeficientes fenotípicos de correlación para algunas de las principales características morfológicas. La no significación de varias características puede ser debida a una baja contribución al desarrollo de la planta o a las diferencias genéticas entre los materiales evaluados.

Soni, S.K. (2013) concluyó que la interacción entre diferentes grupos genéticos puede liberar la variabilidad genética latente, aumentando el espectro de variación genética y la búsqueda de líneas segregantes transgresivas que superen ampliamente a los parentales.

El rendimiento potencial, definido como el rendimiento en grano obtenido cuando el crecimiento no está limitado por el suministro de agua, nutrientes o plagas, es determinado por las características varietales y variables climáticas tales como temperatura y radiación solar durante la época de crecimiento (Kropff et al., 1994).

El rendimiento es una característica compleja, está controlado por numerosos genes, y depende de la combinación de diversas variables. Por ello, la elección de los parentales basándose únicamente en el rendimiento en grano obtenido no aporta una fiabilidad absoluta. El estudio de las correlaciones entre el rendimiento y las principales componentes del mismo es una estrategia eficaz de selección.

Yoshida (1981) menciona los siguientes:

$$\text{Rendimiento grano (kgxha}^{-1}\text{)} = (\text{N}^{\circ} \text{ Panículas/m}^2 \times \text{Granos por panícula} \times \text{\% granos llenos} \times \text{Peso 1000 semillas}) \times 10^{-2}$$

Es importante resaltar que las condiciones de cultivo influyen en cada uno de los componentes y, por lo tanto, en el rendimiento en grano. Un adecuado aporte de N durante todo el ciclo de cultivo es una de las principales estrategias para el incremento del rendimiento (Fageria NK, 2007).

Entre todos los componentes, los parámetros más variables son el número de panículas por unidad de área (Fageria et al., 1997a).

La importancia, en sentido decreciente de los componentes del rendimiento es:

$$\text{N}^{\circ} \text{ panículas} > \text{\% granos llenos} > \text{Peso 1000 semillas}$$

Gravois y Helms (1992) informaron que no era posible un rendimiento óptimo sin una adecuada densidad de panículas. De la misma manera, Ottis y Talbert (2005) informaron de una elevada correlación ($R^2 > 0,85$) entre rendimiento y densidad de panículas.

Los cambios en cada componente pueden afectar el rendimiento porque las correlaciones entre los componentes son generalmente altas y negativas. Es posible que una variedad que presente un número bajo de panículas tenga un rendimiento alto al compensar con un elevado número de granos por panícula (Mackill *et al*, 1996).

Yong-xiang et al (2008), tras evaluar nueve características de veinte variedades de arroz, encontró que el área foliar, la dosis de siembra utilizada y el peso de 1000 semillas estaban correlacionados positivamente con el rendimiento en grano. Sabesan et al (2009) estudió 54 variedades de arroz encontrando correlación positiva entre el rendimiento en grano y la altura de planta y el número de panículas por planta. Hairmansis et al (2010) observó efectos negativos de la altura de planta sobre el rendimiento, mientras que la duración del ciclo y el peso de 1000 semillas no tuvieron efectos significativos sobre el mismo.

Las correlaciones entre panículas por planta con longitud de panícula, peso de panícula, granos por panícula y peso de grano son siempre negativas, al igual que la correlación entre granos por panícula y peso de grano (excepto en pocos casos). Sin embargo, la correlación entre longitud de panícula con peso de panícula, granos por panícula y peso de grano son positivas. Esta consistencia alta en el signo de correlación sugiere que esas correlaciones genéticas negativas y positivas son fundamentales y difíciles de romper (Yonezawa, 1997).

Borbora et al (2005) encontró la existencia de una elevada correlación entre el peso de 1000 semillas y el rendimiento en grano. Madhavalatha et al (2005) concluyó en su estudio la correlación positiva entre rendimiento en grano y número de panículas, número de granos por panícula y peso de 1000

semillas. Qamar et al (2005) encontró asociación positiva entre número de panículas y rendimiento en grano.

Ashan et al (2014) estimó que, características como el número de panículas, número de granos por panícula y peso de 1000 semillas podrían utilizarse como selección indirecta de rendimiento en grano.

En general, el aumento del número de panículas por superficie es el componente del rendimiento más importante asociado a la producción de arroz, seguido del porcentaje de granos llenos y el número total de granos (Gravois y McNew., 1993). Además, concluyeron una baja heredabilidad para el rendimiento tomado sobre la base de una planta individual ($0,12 \pm 0,06$). Sin embargo, la heredabilidad es mayor para el número de panículas ($0,45 \pm 0,05$) y el peso de panículas ($0,31 \pm 0,06$).

Well y Faw (1978) dedujeron una correlación negativa entre rendimiento en grano y número de panículas. Sin embargo, otros investigadores han descrito correlaciones positivas entre número de panículas y rendimiento (Jones y Snyder, 1987; Miller et al., 1991).

La mejora mediante la utilización de los componentes del rendimiento será más efectiva si estos tienen una elevada heredabilidad y una correlación positiva (Sidwell et al., 1976). Ashura Luzi-kihupi (1998) observó una elevada heredabilidad para la altura de planta (94,9%), número de granos llenos por panícula (85,9%), longitud de panícula (71,8%) y peso de 1000 semillas (63,7%). Sin embargo, el número de panículas por planta y el rendimiento por planta obtuvieron los valores más bajos: 21,1% y 26,8%, respectivamente. Además, al realizar un análisis de componentes principales sobre la variable rendimiento, obtuvo que el número de granos llenos por panícula, número de panículas por planta y peso de 1000 semillas tiene una influencia directa y positiva sobre el rendimiento. Por ello, el número de granos llenos y el peso de

1000 semillas son los caracteres más óptimos en la selección en generaciones tempranas.

La selección de panículas largas aumenta el efecto vertedero (atrayero de asimilados) solamente sí el número de panículas por m² se puede mantener. La vía para desarticular la correlación negativa entre estos dos componentes, es incrementar la producción de biomasa durante la fase de desarrollo de la panícula (Slafer *et al.*, 1996). En arroz, el número de granos por superficie fue altamente correlacionado con la acumulación de materia seca desde el inicio de panícula hasta la floración (Kropff *et al.* 1994), mientras el llenado de grano depende de la acumulación de biomasa desde la floración hasta la madurez (Yoshida, 1981). La tasa de llenado de grano parece ser controlada por la morfología de la panícula y la estructura del número de granos en cada ramificación (Yonezawa, 1997).

La selección directa utilizando el rendimiento como parámetro principal es muy difícil en las primeras generaciones de un programa de mejora. El Análisis de Componentes Principales es un procedimiento de reducción de variables. Se utiliza cuando se han obtenido datos de una serie de variables, y se cree que están relacionadas entre sí. Es posible reducir dichas variables a una serie de componentes artificiales que expliquen la mayor parte de la varianza de las variables medidas. La técnica de Análisis de Componentes Principales ha sido aplicada en los trabajos de varios investigadores en programas de mejora de variedades de arroz (Shikari, A.B. et al, 2009).

Además, el método de Análisis de Componentes Principales se ha utilizado para la clasificación de variedades (Abe, T., 1991). Kondo y Futsuhara (1980) clasificaron una serie de variedades japónica según el tipo de densidad de panículas utilizando un análisis de componentes principales. Morishima y Oka (1981) pudieron distinguir claramente las variedades

pertenecientes a las dos subespecies de arroz: japónica e índica tras la realización de un análisis de componentes principales con once caracteres morfológicos. Kiani, G (2013) clasificó un grupo de variedades en diferentes grupos genéticos, y propuso el cruzamiento entre variedades del grupo con los valores superiores de rendimiento en grano y mayor número de panículas por planta con otro grupo que integra variedades con valores superiores en número total de granos por panícula, granos llenos por panícula, longitud de panícula, longitud de grano y peso de 1000 semillas. De esta manera, se espera que la descendencia pueda poseer una buena recombinación de todas estas características.

Sasahara et al (1986) identificó una elevada integración entre la actividad de la alpha-amilasa y el peso total, y la tasa de crecimiento relativo en un análisis de componentes principales utilizando 36 variedades y 3 ecoespecies.

Gravois y McNew, (1993), a través de un análisis de componentes principales, concluyeron que la selección indirecta tomando como criterios principales el peso de panícula y el número de panículas, puede tener un 91% de efectividad respecto a la selección directa del rendimiento.

El rendimiento está relacionado con la producción total de biomasa y el Índice de Cosecha (relación grano-paja). Por lo tanto, el rendimiento puede incrementarse mediante el aumento de cualquiera de los dos factores (Khush, 1995b). Aún así, existe una controversia entre la mayor importancia de ambos, variando según el estudio realizado. Algunos estudios realizaron comparaciones entre variedades semienanas y tradicionales, atribuyendo el aumento del rendimiento al incremento en Índice de Cosecha respecto a la producción de biomasa (Takeda et al., 1983; Evans et al., 1984). Cuando las comparativas se realizaron en condiciones subóptimas de crecimiento, los resultados indican

también que el Índice de Cosecha es más importante que la producción de biomasa. En cambio, el arroz híbrido tiene un potencial productivo un 15% mayor respecto a las variedades tradicionales, debido fundamentalmente al incremento en la producción de biomasa (Song et al., 1990; Yamauchi, 1994). Peng et al., 2000) concluyeron que los mayores incrementos en el rendimiento potencial del arroz se conseguirán aumentando la producción de materia seca.

Parece que la principal restricción al aumento del rendimiento en condiciones favorables es la acumulación máxima de materia seca, definida en una tasa aproximada de $300 \text{ kg} \times \text{ha}^{-1} \text{ y día}$, controlada por la tasa neta de asimilación de dióxido de carbono. (Kropff et al., 1994).

En un estudio comparativo entre condiciones de cultivo subtropicales (Yunnan, China) y tropicales (IRRI, Filipinas) se obtuvo un mayor rendimiento en la primera. En conjunto, en Yunnan se produjo un 50% más de biomasa respecto a la producida en IRRI, mientras que el Índice de cosecha no varió entre las dos localizaciones (Ying et al., 1998). Esta mayor producción de biomasa fue debida fundamentalmente a una mayor tasa de crecimiento del cultivo durante la fase vegetativa y reproductiva. Una elevada tasa de crecimiento es resultado de una elevada fotosíntesis durante el día y una mínima respiración durante la noche (Evans, 1993). El nivel de respiración de las plantas de arroz está muy relacionado con la temperatura del aire y el contenido en N (Tanaka et al., 1966). En este estudio, las temperaturas nocturnas también son menores en Yunnan respecto al IRRI, sugiriendo una menor tasa respiratoria en la primera localización.

El rendimiento en grano es función de 2 factores:

- 1) Biomasa acumulada desde el espigado hasta la madurez fisiológica,
- 2) Biomasa acumulada antes de espigado y traslocado a los granos durante la fase de llenado.

La contribución de ambos parámetros ha sido ampliamente estudiada (Weng et al., 1982; Song et al., 1990; Saitoh et al., 1991; Akita et al., 1986).

Murata y Matsushima (1975) concluyeron que la contribución de los carbohidratos producidos antes del espigado variaba entre el 20 y el 40%. Por ello, alrededor del 70% del rendimiento se debe a la producción de carbohidratos después del espigado siendo la fotosíntesis en esta fase el proceso vital. La hoja bandera se considera el principal órgano fotosintetizador, seguido de las hojas 2ª a 4ª (Ishii, 1995).

En un estudio realizado en Japón para estudiar la contribución al rendimiento entre los carbohidratos almacenados antes del espigado y movilizados para el llenado de grano (NSC), y los carbohidratos fotosintetizados después del espigado (DMP), este concluyó que la contribución de DMP al rendimiento fue mucho mayor que los NSC de reserva. Estos podrían utilizarse durante el llenado del grano para compensar la escasez de carbohidratos (Lubis et al., 1993).

Chau y Bhargava (1993), estudiaron las bases fisiológicas para alta productividad en arroz y encontraron que el rendimiento de grano fue correlacionado positivamente con la producción de materia seca total en posfloración, número de granos por m², tamaño del vertedero y duración del área foliar durante el llenado de grano; y negativamente, con el índice de área foliar (IAF) y la materia seca total (MST). El mayor tamaño del vertedero es debido al alto número de granos por m², panícula más pesada, mayor número de espiguillas en las ramificaciones primarias y alto número de éstas.

Universalmente se han realizado numerosos estudios sobre heredabilidades de caracteres cualitativos y cuantitativos relacionados con el rendimiento de grano en arroz. Los valores de estos estudios no solo dependen del material experimental, sino también de los métodos de estimación y de las

condiciones del experimento. Por lo tanto, al conducir selecciones en determinados caracteres y localidades deben estimarse las heredabilidades para esas condiciones. La teoría de la genética biométrica predice que los valores de heredabilidad llegan a ser altos en generaciones avanzadas y dentro de la misma generación (Yonezawa, 1997). Las variaciones genéticas de los componentes de rendimiento son en su mayoría continuas y controladas por poligenes. Sin embargo, genes mayores están involucrados en algunos caracteres como: ahijamiento con muy pocos genes (Futsuhara y Yanmaguchi, 1963; Takamure y Kinoshita, 1985), densidad de grano (Murai *et al.*, 1978) y tamaño de grano (Takeda y Saito, 1980; Takita 1986), citados por Yonezawa (1997). Los genes mayores para tamaño de grano pueden ser utilizados en el futuro del mejoramiento por alto rendimiento.

Los resultados de los análisis dialélicos de los caracteres: panículas por planta, longitud de panícula, granos por panícula, peso de grano, longitud y ancho del grano en su mayoría, muestran un modelo genético simple compuesto solamente por efectos de genes aditivos y dominantes. Aunque algunos efectos dominantes están involucrados, el mayor componente de la variación se debe a efectos causados por genes aditivos, indicando que estos caracteres están controlados por un sistema genético relativamente simple. Por lo tanto, la selección en generaciones tempranas puede ser efectiva para la longitud de panícula, granos por panícula, peso, longitud y ancho del grano, exceptuando el número de panículas porque lo afecta mucho el ambiente (Yonezawa, 1997).

La herencia de caracteres cuantitativos como los mencionados implica multitud de genes, cada uno de los cuales con un pequeño efecto que, además depende del ambiente. Estos caracteres normalmente tienen baja heredabilidad (grado de transmisibilidad del fenotipo seleccionado), por lo que el desarrollo de marcadores moleculares, el mapeo y el análisis de QTLs (quantitative trait

loci, regiones cromosómicas donde se encuentran genes que influyen de forma significativa en un carácter cuantitativo), son tecnologías que facilitan la investigación de su regulación genética. Los marcadores moleculares se basan en variación genómica que puede ser detectada y rastreada a lo largo de varias generaciones. La asociación entre marcadores moleculares y caracteres heredables permite relacionar el genotipo de un organismo con el fenotipo expresado, de forma que cuanto mayor es el número de marcadores que se puede generar, mayor es la probabilidad de relacionar alguno o varios de ellos con un fenotipo de interés para el mejorador. Los marcadores “ligados” a un carácter de interés agronómico se usan rutinariamente en los programas de mejora para acelerar la selección, en lugar de realizar ensayos de campo o en invernadero.

En arroz contamos con mapas de marcadores tipo RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) y microsatélite o SSRs (Simple Sequence Repeats), y con poblaciones de mapeo específicamente diseñadas (familias de plantas derivadas del cruzamiento entre dos variedades que difieren para los rasgos que se pretenden mapear) que han permitido detectar cientos de QTLs implicados en la regulación de los caracteres relacionados con el rendimiento. El mayor número de QTLs detectados es para el peso del grano, mientras que la variación en el número de tallos fértiles es la que menos se ha podido mapear, puesto que este proceso es más sensible a cambios en las condiciones ambientales (luz, temperatura) y de laboreo (densidad de siembra, fertilización). Para ser útiles en la mejora, sin embargo, estos QTLs han de ser validados en otras poblaciones. De hecho, los avances en el conocimiento de los fundamentos genéticos de la producción de grano no han podido ser del todo aprovechados en la mejora del arroz, debido a la misma naturaleza del análisis de QTLs: los resultados son variables entre ensayos y variedades diferentes,

además de que el efecto de las condiciones ambientales en la variación de este tipo de caracteres no es completamente conocido (Yamamoto et al., 2009). En las evaluaciones en campo, el rendimiento como carácter está sujeto a un mayor error experimental y además los componentes del rendimiento a menudo están inversamente correlacionados (Xing y Zhang, 2010).

Los genes que regulan los componentes del rendimiento en arroz pueden clasificarse en dos grupos. El primer grupo comprende los genes que controlan procesos biológicos, como la producción de tallos y el desarrollo de la panícula. Estos dos procesos comparten similares mecanismos de regulación. Varios genes implicados se han identificado en estudios con mutantes. El segundo grupo comprendería los genes que controlan cambios cuantitativos en los caracteres, de forma que alelos diferentes, incluyendo los de pérdida de función, pueden repercutir en los valores determinados en los fenotipos. Entre estos encontraríamos los genes que regulan el número de granos por panícula, el tamaño de la panícula, las dimensiones del grano, etc. Estos genes se han clonado mediante mapeo.

En cuanto al proceso de ahijamiento en el arroz, este se completa en dos pasos: la formación de meristemas axiales que dan lugar a las yemas y el crecimiento de los hijuelos a partir de estas yemas. La actividad de las yemas axilares viene regulada por complejas interacciones de las fitohormonas, procesos controlados genéticamente en los que se han descrito genes como MOC 1, cuya mutación produce plantas mono-tallo (Li et al., 2003), y D3, Htd1, D10 y D27, cuyos mutantes presentan mayor número de hijuelos y plantas más bajas, etc. Sin embargo, el proceso de ahijamiento depende en gran medida del desarrollo de la planta y de las condiciones ambientales (Lander y Bostein, 1989; Shimizu-Sato y Mori, 2001). Desde el punto de vista agronómico, los hijuelos primarios y secundarios son los que mayormente

contribuyen en la producción de grano frente a los posteriores hijuelos. Actualmente los programas de mejora tienden a desarrollar plantas con menos y más largas panículas para obtener producciones elevadas (Xing y Zhang, 2010).

En relación con el número de granos por panícula, este es función por un lado del número de las espiguillas por panícula (que depende de la duración de la diferenciación de la panícula), y de la tasa de grano por espiguilla. Algunos de los QTLs referentes a este carácter han sido mapeados (Xing et al., 2008; Zhang et al., 2006) y clonados recientemente (Ashikari et al., 2005; Xue et al., 2008). En este caso, también han sido identificados distintos genes como LAX1 (Komatsu et al., 2001) y SPA (Komatsu et al., 2003), implicados en el proceso básico del desarrollo de la panícula; APO1 (Ikeda et al., 2007; Ikeda et al., 2009), Gn1a (Ashikari et al., 2005), SP1 (Li et al., 2009) y DEP1 (Huang et al., 2009), son genes que regulan el ratio de formación de espiguillas, mientras que los genes RC1 y RC2 (Nakagawa et al., 2002) regulan la duración de la diferenciación de la panícula.

El peso del grano viene determinado por el volumen del mismo y el grado de llenado. El volumen del grano es el espacio delimitado por las cubiertas, medido con la longitud, la anchura y el grosor. El tamaño y la forma son importantes también desde el punto de vista de la calidad a causa de las distintas exigencias de los grupos de consumidores (Juliano, 1992; Unnevehr, 1992). En distintos estudios fueron identificados también genes relacionados con la longitud del grano, como gs3 (Fan et al., 2006). En la regulación del grosor del grano participan gw5 (Weng et al., 2008) y gw2 (Song et al., 2007). También se han identificado genes relacionados con el llenado del grano, como GIF1 (Wang et al., 2008).

Son numerosos los estudios realizados sobre la variación de las distintas componentes del rendimiento del arroz mediante la identificación de QTLs

implicados en el carácter (Ando et al., 2008; Brondani et al., 2002; Fan et al., 2006; Guo et al., 2005; Ishimaru et al., 2001; Li et al., 2004; Lin et al., 1996; Liu et al., 2008; Mei et al., 2005; Nagata et al., 2002; Ohsumi et al., 2011; Redoña y Mackill, 1998; Septiningsih et al., 2003; Song et al., 2007; Tian et al., 2006; Thomson, 2003 et al.; Wan et al., 2008; Wu et al. 2000; Xiao et al., 1996; Xie et al., 2008; Xing et al., 2002; Yoon et al., 2006; Yuan et al., 2011; Zeng, 1994; Zhang et al., 2006), y en muchos se han empleado además familias de LDHs (Aluko et al., 2004; Hittalmani et al., 2002; 2003; Huang et al, 1997; Liu et al., 2008; 2010; Zhang et al., 2001; 2004) Generalmente el fenotipado consiste en evaluar el rendimiento de grano por planta y alguno de sus componentes, pero otros autores estudiaron además caracteres como la longitud de la panícula o la altura de la planta, así como el numero de granos llenos y la fertilidad de las espiguillas (Fageria, 2007; Liu et al., 2011; Zhuang et al., 1997).

Tolerancia a estrés abiótico

Muchas tierras disponibles no se pueden sembrar con arroz debido a deficiencias y a toxicidades. Por ejemplo la deficiencia en zinc es importante en muchos países. También existen problemas de salinidad (sobre todo en las condiciones de las explotaciones intensivas europeas) y de toxicidad por boro y hierro. Por ello muchos investigadores estudian la tolerancia de distintas variedades e híbridos frente a estos problemas (Asch et al., 1999; Prasad et al., 2005; Zeng y Shannon, 2000;). Otro objetivo muy perseguido es incrementar la tolerancia al estrés hídrico de la planta sin reducir su rendimiento, reduciendo el aporte de agua necesario en las zonas templadas y asegurando la cosecha en las regiones asiáticas (Guimaraes, 2009). El objetivo concreto en la mejora de las variedades adaptadas a las condiciones españolas es aumentar la eficiencia del

uso del agua. Para ello es necesario reducir el consumo de agua no productiva (evaporación, percolación, etc.) e incrementar la eficiencia del agua productiva que corresponde a las necesidades de transpiración (Haefele et al., 2009). La selección directa en base al rendimiento de grano en condiciones de estrés hídrico es difícil debido a la baja heredabilidad, el control poligénico y a la presencia de epistasias y de interacciones significativas tanto de genotipo x ambiente como de QTLs x ambiente (Cattivelli et al., 2008).

Otro estrés abiótico a tener en cuenta en las regiones arroceras españolas son las bajas temperaturas. La práctica de la siembra directa conlleva la necesidad de mejorar las variedades, para obtener tipos con mayor tolerancia al frío en estados iniciales de desarrollo. El estrés causado por temperaturas inferiores a 15°C durante la nascencia e implantación se traduce generalmente en menores porcentajes de plántulas arraigadas. Este problema es especialmente relevante en regiones templadas con primaveras frescas, como en Levante, y particularmente, en Navarra y Aragón.

En las variedades con mayor tolerancia al frío se ha encontrado algunos genes mayores, pero los análisis más recientes han mostrado que en el genoma del arroz existen numerosos QTLs que regulan este carácter (Andaya y Tai, 2006; Fujino et al., 2004; Jiang et al., 2006; Koseki et al., 2010; Luo et al., 2007; Misawa et al., 2000; Miura et al., 2001; Zhang et al., 2004;),

Resistencias

Otro de los objetivos más importantes perseguido por los mejoradores es el aumento de la resistencia del cultivo frente a enfermedades e insectos. En cuanto a los insectos, variedades resistentes a taladros obtenidas mediante ingeniería genética incorporan el gen cry de *Bacillus thuringiensis*. En cuanto a

enfermedades, la Tabla 7 recoge los genes de resistencia que se han introducido para las más importantes.

En el caso concreto de la Pyricularia, los primeros genes de resistencia específica a Magnaporthe grisea en arroz se describieron hace más de sesenta años (Berruyer et al., 2003). La resistencia específica, que suele ser completa y efectiva frente a un reducido espectro de razas del patógeno, se debe a la acción de genes mayores (denominados genéricamente Pi). Pero se ha encontrado también resistencia general o inespecífica, que suele ser parcial y deberse a la acción de genes menores y QTLs. Se han descrito hasta el momento 73 genes Pi que confieren resistencia completa, de los cuales ocho han sido ya clonados. La resistencia parcial, por su parte, se ha asignado a 11 genes (uno clonado, pi21) y a más de cien QTLs (Quantitative Trait Loci), es decir, existen multitud de regiones genómicas con control cuantitativo de la resistencia a Pyricularia. Una amplia revisión al respecto puede encontrarse en Ballini et al. (2008).

Calidad

La calidad del grano depende de la región y las exigencias de mercado. Por ejemplo en España más de la mitad del arroz producido son variedades indica y son destinadas mayoritariamente a la depende de la apariencia: tamaño, forma, color, uniformidad, grano entero, perlado/cristalino (en general son caracteres de alta heredabilidad $h^2 > 0,8$) y de las características físico-químicas. Estas últimas determinan la calidad para el cocido, destacando el contenido en amilosa (con menos amilosa el grano cocido queda húmedo y pegajoso), la consistencia del gel, la temperatura de gelatinización (cuando el grano comienza a absorber agua), la textura (consistencia y adhesividad) y el aroma. El segundo atributo de calidad es la adecuación del arroz a procesos industriales. Por ejemplo la aptitud para la molienda, que viene determinada por

el rendimiento de granos enteros, oscila entre 30-65% en función de la variedad, del tipo de grano, de la presencia de la perla, del secado, etc. En general el grano largo da peor rendimiento. Dentro de la calidad para otros procesos industriales cabe destacar la mejor aptitud de las variedades de grano largo con contenido en almidón intermedio-alto para el arroz vaporizado o arroz para harina con propiedades específicas en cuanto a consistencia del gel, adhesividad y viscosidad del grano entre otros. En tercer lugar se valora la calidad nutricional, sobre todo en las regiones donde el arroz es la base de la alimentación, pudiendo aumentar el contenido en proteína, vitaminas o minerales.

1.10.2. MÉTODOS DE MEJORA DE ARROZ

1.10.2.1. Métodos clásicos

Los actuales programas de mejora consisten en:

- Introducción de genes basada en colecciones de germoplasma.
- Hibridación y selección.
- Desarrollo de variedades híbridas.

Al tratarse de una especie autógamas, los métodos convencionales de los mejoradores de arroz se han basado en “reciclar” las líneas puras con mejores características cruzándolas entre sí para obtener poblaciones en las que seleccionar nuevos tipos (Guimaraes, 2009). Esto es posible cuando las líneas son genéticamente diversas y su descendencia presenta una amplia segregación para los caracteres que se seleccionan, por lo que resulta fundamental conocer la genealogía de los materiales que se van a emplear en los programas de

mejora. Esta información se encuentra en la base de datos IRIS (International Rice Information System) del IRRI.

En cuanto a la introducción de variación desde los parientes silvestres del arroz, los híbridos entre el arroz cultivado y las especies de genoma AA pueden obtenerse con relativa facilidad (aunque suele requerirse rescate de embriones), y así los genes de interés pueden introducirse mediante programas de retrocruzamiento. La identificación de los genes implicados en la incompatibilidad ha permitido grandes avances en las últimas décadas a este respecto (Negrao et al., 2008). Además, la herencia transgresiva que aparece en este tipo de cruzamientos ayuda a encontrar alelos favorables aunque los resultados de los individuos obtenidos sean peores.

Además de la variación originaria de los recursos fitogenéticos del arroz, el uso de diferentes técnicas para inducir mutaciones representa un importante método para generar diversidad genética en caracteres específicos. El método más destacado en mutagenesis es la utilización de rayos gamma, que ha permitido paralelamente la introducción de caracteres específicos como menor altura de planta, precocidad, resistencia a insectos y endospermo vítreo (Guimaraes, 2009).

Finalmente, en la mejora del arroz destaca recientemente la introducción de las variedades híbridas, que se comenzaron a cultivar en China en 1974 con el objetivo de incrementar el rendimiento potencial de las variedades tradicionales, aprovechando la heterosis (Guimaraes, 2009).

Los primeros métodos de hibridación se basaban en el uso de tres líneas de progenitores: una línea A androesteril, la línea B mantenedora (responsable de mantener la androesterilidad genética en la línea A), y una línea R usada como progenitor masculino, capaz de restaurar la fertilidad en la línea A y producir por tanto la semilla híbrida. La obtención de variedades híbridas está

limitada por la baja producción de semilla, lo que ha sido superado empleando el sistema de androesterilidad citoplasmática. Los mutantes androesteriles de arroz son sensibles al fotoperiodo (PGMS) o a la temperatura (TGMS). Las líneas con PGMS son androesteriles en condiciones de día largo, y fértiles en día corto, mientras que las TGMS son androesteriles a temperaturas superiores a 25°C. Esta modulación de la fertilidad permite propagar las líneas androesteriles sin necesidad de líneas mantenedoras. Además de superar el problema de la producción de semilla, el éxito del híbrido depende del nivel de heterosis logrado después del cruzamiento, de manera que se justifique el mayor coste de la semilla (Guimaraes, 2009). En la actualidad, más de 110 países cultivan este arroz, destacando China, India, Filipinas, Vietnam, Bangladesh e Indonesia. Las mejoras en la producción de las variedades híbridas frente a las variedades convencionales varían desde el 20% en Filipinas hasta el 30,2% en Vietnam (Virmani, 2003). En España, sin embargo, las variedades son aun líneas puras debido a que los híbridos que se han ensayado, no han mostrado óptimos resultados en nuestras condiciones.

1.10.2.2. Herramientas biotecnológicas

Las hibridaciones entre el arroz cultivado y las especies del genero *Oryza* con genoma distinto al AA, así como muchos híbridos entre tipos indica y tipos japónica, requiere la aplicación de técnicas de rescate de embriones y de fusión de protoplastos. En este sentido, la biotecnología está jugando un papel muy importante en la mejora genética de arroz, destacando, además de las técnicas mencionadas:

- La aplicación del cultivo de anteras para obtener LDHs.
- La producción de plantas transgénicas con genes de interés agronómico.

Los primeros protocolos para el cultivo de anteras de arroz se pusieron en marcha hace ya 40 años. La haploidia puede intervenir en el mejoramiento de las plantas autógamas de dos modos diferentes. Por un lado, facilita la identificación y selección de mutantes recesivos a nivel de plantas y de células. Por otro lado, la inducción de haploides en plantas heterocigotas como híbridos F1 y familias F2, seguida de una duplicación cromosómica (con colchicina), permite la obtención de líneas perfectamente homocigóticas en una sola generación. Los éxitos en el cultivo de anteras de arroz han sido descritos por muchos investigadores, de forma que son rutinarios los programas de mejora que parten de un cruzamiento entre dos líneas con caracteres complementarios, para a continuación emplear las anteras de la descendencia F1 para dar lugar a una familia de líneas doble haploides (Devaux y Pickering, 2005) que surgen espontáneamente en el cultivo sin necesidad de la duplicación posterior. Esta familia de LDHs reúne las diferentes combinaciones genéticas derivadas de las dos líneas progenitoras, y se puede emplear como población de mapeo para los caracteres en los que diferían ambas, así como fuente de líneas puras mejoradas.

El cultivo de anteras de arroz consta de dos fases, la inducción de callo y la regeneración de plantas verdes (existe una alta proporción de plantas albinas que se regeneran en estos cultivos). Estas dos etapas están controladas genéticamente y muestran herencia cuantitativa. Los tipos indica poseen, sin embargo, un “background” genético recalcitrante para ambos caracteres, por lo que el uso de la técnica del cultivo de anteras en el arroz se ha visto limitada por la baja frecuencia de producción de callos y de regeneración de plantas verdes en genotipos pertenecientes a esta subespecie (Silva y Ratnayake, 2010). Además del genotipo, la respuesta androgénica del arroz depende del estado de desarrollo de la microspora, de las condiciones de desarrollo de los padres

donantes (fotoperiodo e intensidad de la luz), el tratamiento físico de las anteras antes de su inoculación, el medio empleado, etc. (Bouharmont, 1989; Matsuo, 1997).

En cuanto a la transformación genética del arroz, ha sido posible por distintos métodos, tanto directos (bombardeo de partículas, electroporación, polietilén-glicol) como indirectos mediante *Agrobacterium*. Las variedades de arroz transgénicas contienen genes foráneos que confieren resistencia a taladros (Bt), resistencia a hongos (genes de quitinasas) y bacterias (gen Xa-21), tolerancia a virus y tolerancia a herbicidas. Finalmente, también se han obtenido variedades transgénicas de arroz con genes asociados a calidad nutricional, como el arroz dorado con mayor contenido de proteína A gracias a la inserción de genes de la ruta de síntesis de los carotenos o el arroz con mayor contenido en una proteína, la ferritina, que conlleva un mayor contenido en hierro del grano (Guimaraes, 2009).

1.10.2.3. Marcadores moleculares y genómica

Las principales aplicaciones de la genética molecular y la genómica en la mejora genética del arroz son:

- Desarrollo de mapas genéticos con miles de marcadores;
- Identificación de marcadores ligados a genes y QTLs de relevancia económica y desarrollo de protocolos para selección asistida por marcadores (SAM);
- Comparaciones con genomas de otros cereales (trigo, cebada, maíz...);
- Desarrollo del mapeo asociativo mediante de técnicas de genotipado masivo o ultrasecuenciación (High Throughput Sequencing) que permiten la rápida identificación de alelos SNPs

(Single Nucleotide Polymorphisms) relacionados con variación fenotípica relevante en caracteres agronomicos.

En arroz se obtuvieron miles de marcadores de ADN (Mc Couch, 2002), siendo los más frecuentemente empleados en el mapeo de caracteres de interés, los microsatélites (Simple Sequence Repeats o SSR). Para mapear genes se procede a generar marcadores de forma que quede cubierta la mayor parte del genoma, y se determina la variación existente para estos marcadores entre los progenitores y en la población de mapeo (familias F2, F6-8 o LDHs). Paralelamente se procede a la caracterización fenotípica de las mismas plantas, de forma que se pueda asociar la variación detectada en los caracteres agronómicos a la presencia de algún marcador, lo que ubicaría los genes implicados en la regulación del carácter en la región cromosómica donde se ha amplificado dicho marcador. Una amplia revisión sobre el empleo de los marcadores moleculares en la mejora genética del arroz puede encontrarse en Jena y Mackill (2008). Los marcadores mas comúnmente utilizados para la selección en los caracteres productivos son los SSR y los RFLPs (Agrama et al., 2007; Ando et al., 2008; Quarrie et al., 2005; Septiningsih et al., 2003; Song et al., 2007; Xiao et al., 1996; Yoon et al., 2006).

La información genómica sobre el arroz se encuentra a disposición de investigadores y mejoradores en las bases de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information), y en la web Gramene (www.gramene.org). La secuenciación del genoma del arroz indica fue llevada a cabo por el Instituto de Genómica de Pekin y el Centro del Genoma de la Universidad de Washington (Yu et al., 2002), mientras que un segundo equipo liderado por la compañía privada suiza Syngenta, decodificó la secuencia de una variedad japónica (Goff et al., 2002). Los factores determinantes de este hito científico fueron el

pequeño tamaño del genoma de la especie, de 430 Mb según Arumuganathan y Earle (1991) y de 400 Mb una vez revisado (Chen et al., 2002); la homología que presenta con los otros cereales; la disponibilidad de mapas moleculares densamente poblados (más de 2300 marcadores); el análisis de multitud de secuencias codificantes (expressed sequence tags, ESTs); la gran cantidad de recursos genéticos disponibles (mutantes, especies silvestres...) y la relativa facilidad con la que se puede transformar.

Dado que se dispone de dos secuencias genómicas de referencia en arroz, esta información permite por un lado la identificación de genes candidatos mediante bioinformática y, por otro lado, el descubrimiento de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) mediante la comparación de la referencia con las secuencias de diferentes cultivares (Edwards y Batley, 2010). Esto es posible porque las nuevas técnicas de ultrasecuenciación permiten obtener de una forma rápida y eficiente la secuencia y la comparación de genomas a partir del genoma de referencia (Lam et al., 2010). La resecuenciación de varios genomas proporciona miles de marcadores SNPs, que pueden corresponderse con los alelos de un gen que ocupe dicha posición. Para encontrar los SNPs que son efectivamente alelos de genes cuya variación implica variación fenotípica en un cierto carácter se emplea el mapeo asociativo o mapeo por asociación.

Se trata de un método estadístico para identificar loci asociados con la variación observada en el fenotipo de caracteres complejos. Comparte fundamentos con el mapeo de QTLs, pero a diferencia de este, no implica el uso de poblaciones estructuradas (relacionadas por parentesco). Se estudian en este caso grupos de variedades, que representan un mayor número de eventos de recombinación pues existe un mayor número de generaciones transcurridas

desde que compartieran ancestro. Este hecho se traduce en una mayor resolución del mapeo.

La genética de asociación es un método poderoso para la relacionar las variaciones fenotípicas determinadas en las plantas con estos polimorfismos genéticos, facilitando la identificación de genes, con sus respectivas variantes, responsables de caracteres determinados, así como de las variedades portadoras de los alelos óptimos (Ingvarsson y Street, 2010). Estas nuevas herramientas posibilitan modernizar los métodos de mejora desplazando el tradicional análisis de QTLs hacia la asociación basada en el desequilibrio de ligamiento.

Independientemente de la técnica empleada en el genotipado, bien sean marcadores SSRs o AFLPs derivados de una PCR, o bien marcadores SNPs derivados de la resecuenciación de los genomas que muestran variación, es preciso realizar un fenotipado exhaustivo y muy cuidadoso de las plantas cuya variación genética se pretende analizar.

2. OBJETIVOS

La utilización de una población de líneas doble haploides permite la realización de un ensayo idéntico durante dos años consecutivos, ya que las líneas son homocigotas.

Los objetivos a alcanzar son:

1. Determinación de una subpoblación genéticamente diferente de líneas dobles haploides, seleccionadas a partir de un análisis masivo de marcadores (microarrays), dentro de la población doble haploide original.

Para ello se recurrirá al panel de referencia diseñado por *Diversity Arrays Technologies (DArT, <http://www.diversityarrays.com>)*, una empresa establecida en Yarralumla, Australia. La tecnología consiste en hibridar las muestras de ADN de la población de arroz problema (en nuestro caso los parentales y los descendientes del cruzamiento) sobre una serie de *microarrays* de ADN que esta empresa ha obtenido fijando sobre placas de vidrio una colección de más de 6000 secuencias aleatorias clonadas en más de 50 variedades de arroz (Jaccoud y col. 2001). Este sistema de genotipado determina los fragmentos con los que hibrida cada una de las muestras problema. Las diferencias en los patrones de hibridación revelan regiones del genoma que varían entre las muestras analizadas, lo cual es especialmente útil en el estudio de los caracteres cuantitativos, como por ejemplo el vigor germinativo (Reinke, 2006).

2. Evaluación fenotípica de la población inicial de 115 líneas doble haploides del cruzamiento realizado entre las variedades *Benisants* y

Gigante Vercelli, junto a los dos parentales, y la variedad más representativa de la zona, *Gleva*.

Evaluación fenotípica de los caracteres relacionados con el rendimiento en la subpoblación genéticamente diferente obtenida.

3. Comparación de los principales parámetros estadísticos obtenidos en el ensayo del objetivo 2, y comparación con un diseño no balanceado, utilizando 8 y 4 repeticiones de las existentes en el ensayo.
4. Selección de la línea doble haploide que posea un mayor rendimiento en grano en las condiciones del ensayo, comparándola con las variedades parentales y la variedad testigo.
5. Determinar los principales factores relacionados con el rendimiento que se podrían utilizar en una selección indirecta de nuevas variedades.
6. Evaluar la bondad de la selección por lattice Square frente a diseños convencionales mediante la realización de un ensayo comparativo entre un diseño en lattice square 3 x 3 (9 líneas) y 4 repeticiones, y un ensayo de cultivo en filas de plantas, en bloques completos al azar y tres repeticiones, que comprenda:
 - tres líneas doble haploides con menor producción en grano,
 - tres líneas doble haploides con mayor producción en grano
 - los dos parentales del cruzamiento: *Benisants* y *Gigante Vercelli*

Objetivos

- la variedad de referencia cultivada en la zona de Valencia de grano medio perlado, *Gleva*

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo principal determinado en el objetivo 2 se realizó en los años 2009 y 2010, y se localizó en una parcela cultivada por la Cooperativa de Productores de Semillas de Arroz, S.C.L., en el Término Municipal de Sueca (Valencia), partida Malvinar y polígono 49, parcela 85, con una superficie total de 1,472 Has. La superficie de la parcela no utilizada por el ensayo fue cultivada durante los dos años de estudio con la variedad *Fonsa*.

El ensayo comparativo de diseños en campo determinados en el objetivo 6 se realizaron en el año 2014 en la Finca Raga, situada en Sueca (Valencia) en el Polígono 25, parcela 130, en una parcela sembrada de la variedad *Argila*.

El suelo de las parcelas utilizadas para los ensayos se caracteriza por ser de naturaleza caliza, textura arcillosa, pobre en materia orgánica y de reacción alcalina. En general, la cantidad de calcio y magnesio, sulfatos y cloruros es suficiente. Es pobre en elementos activos como el fósforo y el potasio. El pH posee un valor aproximado de 8.

El clima es mediterráneo. Los inviernos, suaves y cortos, duran desde finales de diciembre hasta principios de marzo. Los veranos, largos y calurosos, son refrescados por los vientos procedente del este, y su duración es de cinco meses, desde mediados de mayo hasta mediados de octubre. La estación seca empieza en la tercera decena de enero y termina en la tercera de agosto, y durante la misma llueve la cuarta parte de las lluvias anuales. La insolación media es de 2.549 horas. Los vientos dominantes son los de NE y SW. La dirección del primero es dominante el semestre central del año, y particularmente en el verano. La dirección que más se destaca por su frecuencia es la de SW, y ocupa casi todo el año, aunque predomina en el primero y segundo trimestre.

3.1. MATERIAL VEGETAL

A partir del cultivo *in vitro* de anteras inmaduras de plantas F1 procedentes del cruzamiento entre las variedades japónicas *Benisants* y *Gigante Vercelli*, se obtuvieron en 2008, plantas doble haploides en la Estación Experimental de Aula Dei – CSIC (Zaragoza). Dichas plantas fueron cultivadas para obtener su semilla, que se recolectó individualmente. Entre todas las líneas obtenidas, se seleccionaron las que presentaron un ciclo más corto y mostraron alguna diferencia con alguno de los parentales, constituyendo las 115 líneas objeto del presente estudio.

Las características de los parentales empleados en la obtención de la población inicial son:

Tabla 2. Características de las variedades parentales.

	BENISANTS	GIGANTE VERCELLI	GLEVA
Duración del ciclo	130-140 días	140-145 días	125-135 días
Altura planta	75-80 cm	115-120 cm	55-60 cm
Resistencia encamado	Elevada	Baja	Muy elevada
Rendimiento productivo	Elevado	Medio-bajo	Elevado
Resistencia enfermedades	Media	Muy elevada	Media
Tipo de grano	Medio, Perla lateral	Medio grande, perla central	Medio, perla central
Longitud grano (cariópside)	5,75 mm	6,90 mm	5,33 mm
Anchura grano (cariópside)	3,49 mm	3,30 mm	3,14 mm
Relación L/A (cariópside)	1,6	2,1	1,7
Peso 1000 granos (espícula)	33,80 g	35,50 g	33,50 g
Rendimiento (Total/Enteros)	Medio	Medio	Medio

La variedad *Benisants* fue obtenida por Copsemar S.C.L., a partir del programa de obtención de variedades propio iniciado en el año 1.989. Se trata de una variedad de estatura media, ciclo medio y grano medio perlado.

La variedad *Gigante Vercelli* es de origen italiano, presenta una altura elevada, ciclo medio y un grano medio perlado de gran tamaño. La importancia de esta variedad radica en su elevada resistencia a *Pyricularia* (*Magnaporthe oryzae*), siendo considerada como una variedad de referencia en algunas publicaciones europeas (CT95-37 Resgen).

La variedad *Gleva* fue obtenida por la empresa Semillas Certificadas Castells, SL. En la actualidad, se cultiva en alrededor del 50 % de la superficie arroceras de la Comunidad Valenciana.

En el ensayo se dispusieron 118 genotipos:

- 115 líneas doble haploides obtenidas a partir del cruzamiento entre las *Benisants* x *Gigante Vercelli*, y mencionadas anteriormente.
- Las 2 variedades que actúan como progenitores del cruzamiento.
- La variedad *Gleva*, por ser la variedad más cultivada en la zona de Valencia.

Con el fin de tener una media más fiable, se usaron 2 repeticiones de cada una de las variedades parentales, así como de la variedad testigo, obteniéndose un total de 121 líneas de ensayo.

A partir de hojas de las 115 líneas doble haploides y de los dos progenitores, se aisló el ADN siguiendo el protocolo recomendado por la empresa *Diversity Arrays Technology* (DArT). Dichas muestras fueron enviadas para su análisis en la plataforma de marcadores SNPs de la citada empresa.

La distancia genética entre cada par de individuos se calculó utilizando el coeficiente de distancia genética D_A (Nei *et al.*, 1983), mediante el programa POPULATIONS 1.2.31 (Langella, 2000), para construir un dendograma siguiendo el método Neighbour-Joining (Saitou y Nei, 1987), implementado en el programa MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011).

Para la realización del ensayo comparativo entre el diseño en lattice square y el diseño en bloques completos al azar, se utilizaron las 3 líneas que obtuvieron el valor más alto en rendimiento de grano por planta, y 3 líneas que obtuvieron los valores más bajos. Además, se dispusieron las 2 variedades parentales y la variedad de referencia de grano perlado, *Gleva*.

3.2. DISEÑO DEL ENSAYO

Se diseñó un ensayo en cuadrado reticulado (lattice square). En este caso, el número de tratamientos es un cuadrado perfecto, el tamaño de cada bloque es igual a la raíz cuadrada de este número y el número de repeticiones es siempre una unidad más respecto al número de unidades por bloque.

Los parámetros de este ensayo son:

1. Número de tratamientos: 121
2. Tamaño del bloque: 11 parcelas elementales
3. Número de repeticiones: 12

Las dos características principales del ensayo son la definición de parcela elemental, consistente en una única planta individual; y el marco de plantación utilizado: 0,5 x 0,5 m, de tal manera que permita la máxima expresión de todo su potencial productor.



Figura 6a. Vistas del diseño del ensayo en lattice square en campo



Figura 6b. Vistas del diseño del ensayo en lattice square en campo.

La evaluación, por tanto, se realizó en condiciones de no competitividad entre individuos, o entorno aislado, y al mismo tiempo, debido al elevado número de repeticiones, permitió la obtención de un gran número de datos de cada una de las líneas ensayadas.

Todo el ensayo se rodeó con plantas del progenitor *Benisants* para evitar el efecto borde. La superficie total es de 350 m². El ensayo se realizó durante los años 2009 y 2010.

El abonado de la parcela se realizó empleando 20 kg de abono complejo 27-13-10, lo cual equivale a 5,4 UF de N, 2,6 UF de P₂O₅ y 2 UF de K₂O. Las plantas se obtuvieron a partir de semilleros establecidos en la primera semana de mayo. El trasplante se realizó el 4 de junio en el ensayo del año 2009 y el 18 de junio en el de 2010, cuando las plantas estaban en el estado fenológico BBCH 20. Las plantas fueron cultivadas con las labores habituales en la zona. La diferencia de fechas de trasplante entre los dos años se realizó para la observación del comportamiento de cada línea en dos escenarios de desarrollo vegetal diferentes, ya que, aunque las plantulas se trasplantan en el mismo estadio fenológico (BBCH 20), el retraso en el trasplante siempre provoca un desarrollo vegetativo menor.

En campo se determinaron, individualmente sobre cada una de las plantas existentes, las siguientes características:

- Altura desde la base de la planta hasta el nudo de la panícula principal (AN),
- Longitud media de panícula principal (LN), obtenida mediante diferencia entre la altura total y la altura del último nudo,
- El número de tallos fructíferos (NT),

- Peso medio total de grano producido (PG),
- Peso medio total por planta (PT),
- Índice de cosecha, obtenido como el cociente entre el peso del grano (PG) y el peso total de la planta (PT), (INDCOS),
- Número de días transcurridos desde la siembra hasta el 50 % del espigado (DE),



Figura 7. Preparación de plantas para su evaluación.



Figura 8. Medición en campo de la altura de las plantas.

En laboratorio, se conservaron dos panículas de cada planta de las líneas seleccionadas en la subpoblación obtenida a partir del análisis genético (2 panículas por cada una de las 12 repeticiones, dando lugar a 24 panículas de cada línea), así como de las variedades parentales y la variedad de referencia. Tras desgranarlas, fueron separados los granos llenos de los vacíos, y se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

- Número de granos por panícula (NGR),
- Número de granos llenos por panícula (NUGRLL),
- Porcentaje de granos llenos por panícula (%LL),
- Peso de 100 granos (P100S). Para esta determinación, los granos llenos de cada panícula se sometieron al equipo Opto Rice. Se trata

de una estación de análisis de granos de arroz por tratamiento de imagen de alta resolución y pesada numérica. Este aparato permite determinar en el laboratorio en una muestra de granos de arroz, tanto descascarado como paddy, las biometrías (longitud, anchura, relación L/A), contar el número de granos de la muestra y el peso de 100 semillas.



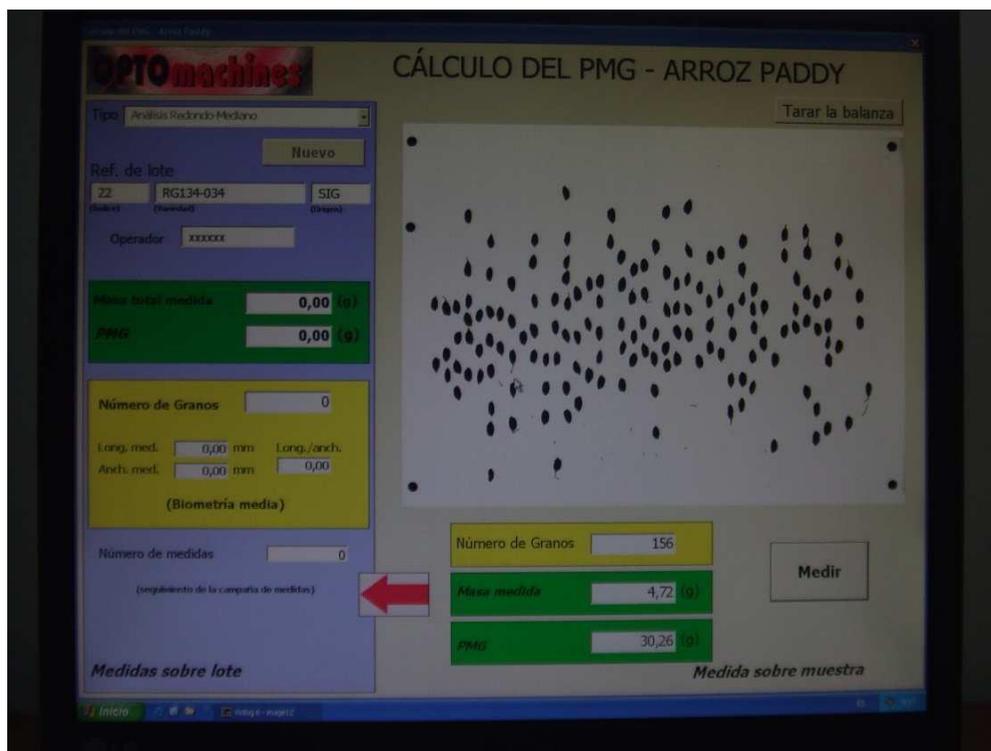


Figura 9. Medición en laboratorio mediante el equipo Opto Rice.

Con los valores obtenidos en cada una de las repeticiones se calcularon los valores medios de cada uno de los parámetros anteriores, utilizándose estos para el análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa GENSTAT 12.1, introduciendo todos los datos a partir de las hojas de cálculo generadas en la toma de datos, tanto en campo como en laboratorio. Para cada parámetro evaluado, se realizó un Análisis de Modelos Lineales Mixtos (REML). Este modelo incluye términos fijos (LÍNEA) y aleatorios (REPETICIÓN, FILA, COLUMNA, AÑO). De esta manera, se analizó toda la variabilidad existente posible.

El ensayo comparativo entre diseños en campo se realizó con los siguientes parámetros:

1. El ensayo en lattice square tenía una estructura 3x3 con 9 parcelas elementales y 4 repeticiones. La parcela elemental constaba de una única planta, con un marco de plantación de 0,5 x 0,5 m.
2. El ensayo en bloques completos al azar contaba de 3 repeticiones, 9 parcelas elementales por bloque, con 2 filas de 10 plantas cada una, y un marco de plantación de 0,4 m entre filas y 0,25 m entre plantas.



Figura 10. Disposición en campo de las parcelas del ensayo con diseño en bloques al azar.



Figura 11. Disposición en campo de las parcelas del ensayo con diseño en lattice square.

En ambos casos se prepararon plántulas, que después se llevaron a campo, poniendo las plantas según la disposición de cada ensayo. Las fechas de siembra fue el 20 de mayo y el trasplante se realizó el 13 de junio de 2014.



Figura 12. Disposición de los plántulos de las parcelas del ensayo con diseño en lattice square.

Las evaluaciones efectuadas fueron las mismas que en el ensayo principal, aunque en este caso el parámetro principal de evaluación y comparación fue el rendimiento en grano por planta.

De la misma manera, el análisis estadístico se realizó mediante un Análisis de Modelos Lineales Mixtos (REML) en el caso del lattice square, y mediante un Análisis de la Varianza (ANOVA) para el caso de los bloques completos al azar.

4. RESULTADOS

Las condiciones climáticas fueron diferentes en los dos años de realización del ensayo. Las temperaturas mínimas registradas en los meses de mayo y junio fueron más frías en 2010 que en 2009 (Figura A), afectando a la fase inicial de crecimiento de las plantas de arroz. La amplitud térmica en los meses de mayo y agosto de 2010 también fue significativa, registrándose valores máximos de temperatura muy superiores a los de 2009. Con respecto a la precipitación total anual, esta fue muy superior en 2009, con 798,5 mm frente a los 542,1 mm de 2010, siendo particularmente relevantes las lluvias del mes de septiembre de 2009 (Figura B). Estas lluvias causaron la pérdida de varias plantas del ensayo, no pudiendo completarse su evaluación.

En este caso, las temperaturas más bajas producidas en el año 2014 también contribuyeron a aumentar las diferencias observadas en el comportamiento de las líneas en cada uno de los años.

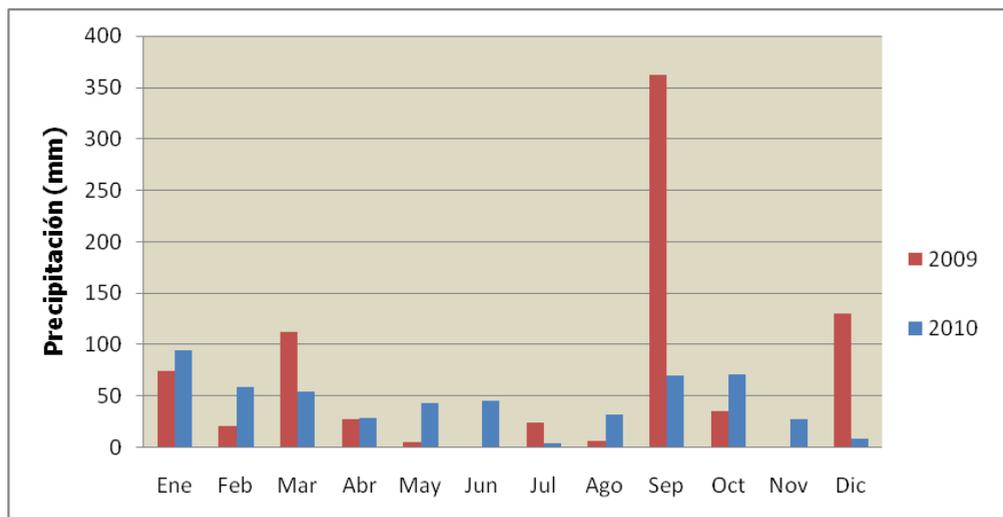
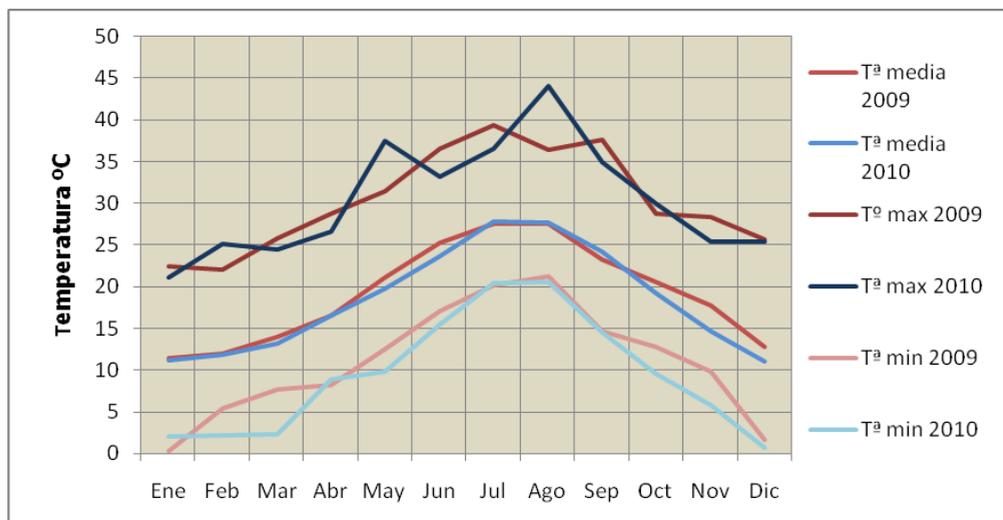


Figura 13. Condiciones climáticas en la estación meteorológica de Sueca (Valencia) en los dos años de ensayo respecto a promedios de temperaturas mínimas, medias y máximas mensuales (A) y a precipitaciones mensuales (B).

4.1. OBTENCIÓN DE LA SUBPOBLACIÓN PARA ANÁLISIS DE COMPONENTES DEL RENDIMIENTO

El cultivo de anteras permite la obtención de líneas homocigotas en un único ciclo de cultivo in vitro (Lentini, 1977).

El análisis DArT proporcionó 465 SNPs entre los dos progenitores, *Benisants* y *Gigante Vercelli*, que se encontraron desigualmente repartidos en los 12 cromosomas.

La Figura 1 muestra el dendrograma NJ obtenido en base a estos marcadores con las 115 líneas doble haploides y los dos progenitores. En principio, una población de líneas doble haploides muestra la variabilidad genética esperada en una generación F2 (Lentini, 1977). Aunque los marcadores encontrados no permitieron un genotipado completo, el dendrograma obtenido mostró una elevada proporción de líneas doble haploides genéticamente más próximas a la variedad *Benisants*, mientras que un número reducido de líneas mostró mayor relación con el progenitor *Gigante Vercelli*. En base a este análisis, se seleccionó un subgrupo de líneas doble haploides representativas de la diversidad encontrada, en las que se realizó la caracterización detallada de los parámetros relacionados con las panículas.

Estos resultados pueden explicarse porque dicha población fue obtenida dentro del programa de obtención de nuevas variedades de la Cooperativa de Productores de Semillas de Arroz, SCL (Copsemar, SCL). Con la realización de este cruzamiento se trataba de incorporar a la variedad *Benisants* ciertas características de la variedad *Gigante Vercelli*, tales como mayor tamaño de grano, panículas más largas, mayor número de granos por panícula y mayor tolerancia a Pyricularia. Solo las líneas que mostraron inicialmente porte y ciclo similares al progenitor adaptado a la zona de cultivo, que se correspondía con la

variedad *Benisants*, fueron seleccionados. El resto fueron abandonados por no cumplir los requisitos marcados en los protocolos de selección de esta población. Sin embargo, para la realización del presente estudio se reutilizaron un pequeño grupo de líneas similares al otro parental, GV, y cuyas características se desconocían inicialmente.

Se escogieron las siguientes 55 líneas doble haploides que representan genéticamente al conjunto de líneas obtenidas: 7, 8, 11, 13, 14, 15, 17, 22, 24, 29, 30, 33, 35, 36, 38, 39, 41, 43, 46, 47, 49, 50, 51, 53, 54, 56, 57, 59, 63, 65, 66, 68, 69, 72, 74, 79, 80, 82, 83, 85, 90, 91, 92, 93, 96, 97, 98, 99, 106, 109, 110, 111, 112, 114 y 115.

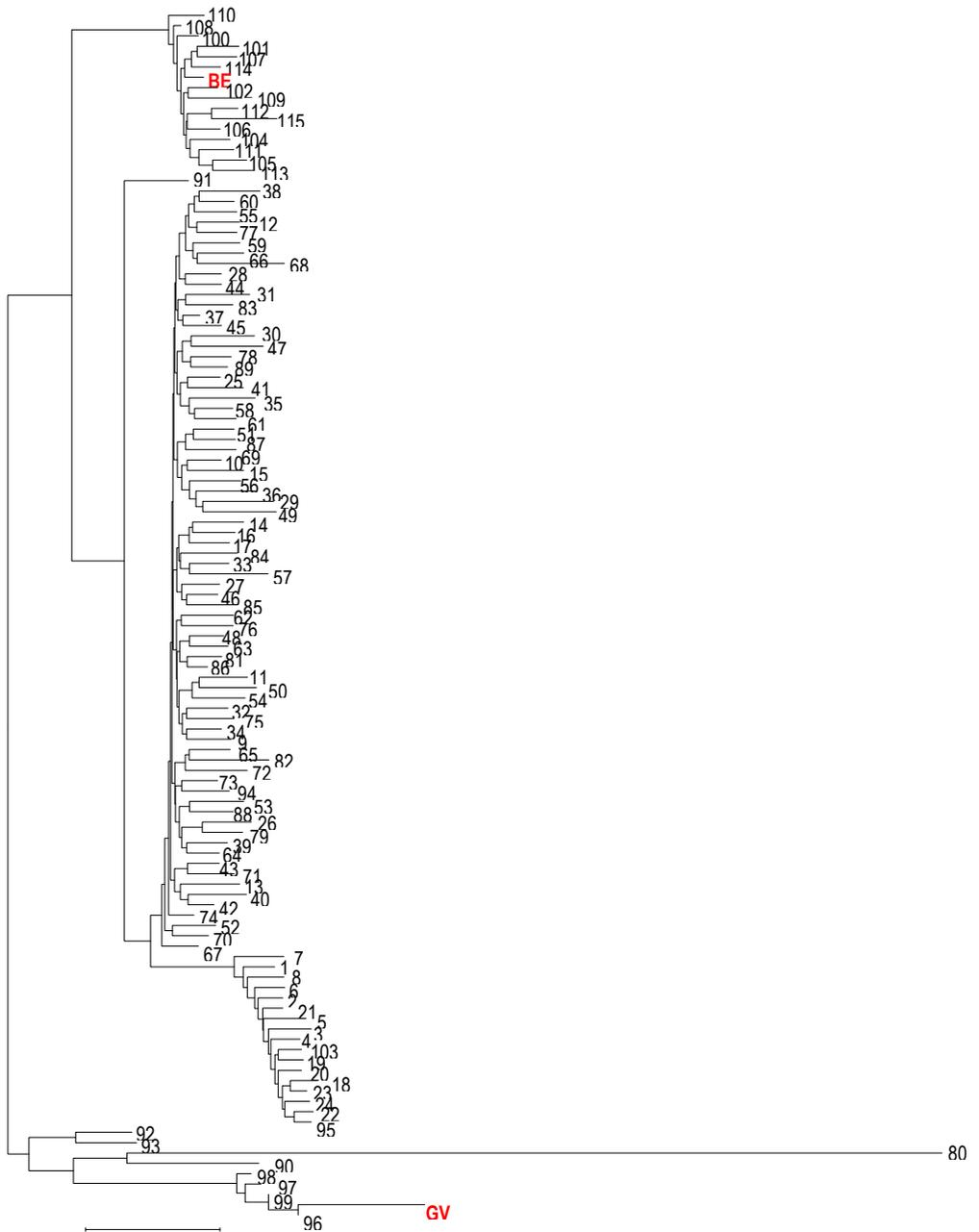


Figura 14. Dendrograma NJ construido a partir de la distancia genética de Nei *et al.* (1983) estimada entre las 115 líneas dobles haploides y sus dos progenitores, *Benisants* (BE) y *Gigante Vercelli* (GV).

4.2. EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE LA POBLACIÓN COMPLETA

El cultivo de las líneas del ensayo se llevó a cabo con normalidad en la parcela de campo durante dos años consecutivos.

El diseño experimental en lattice square permitió distribuir las líneas de ensayo de la manera más aleatoria posible. Una condición indispensable para la realización de estos diseños es que el número de tratamientos usados ha de ser un cuadrado perfecto (Raza y Masood, 2009). En los diseños balanceados, el tamaño del bloque es igual a la raíz cuadrada del número total de tratamientos, y el número de repeticiones es una más que el tamaño de bloque.

El diseño utilizado busca la expresión los rendimientos potenciales, tomados como rendimiento en grano, en ausencia de limitación de suministro de agua, nutrientes o plagas (Kropff et al, 1994).

La competencia entre plantas puede afectar a la expresión del rendimiento (Ntanos y Roupakias, 2001), por lo que la principal particularidad del ensayo fue la dimensión de la parcela elemental, consistente en una única planta situada a un marco de plantación exacto (0,5 x 0,5 m), tal que permite la máxima expresión de los caracteres morfológicos, buscando el cultivo en un entorno aislado (Donald y Hamblin, 1976).

La evaluación de los parámetros fenológicos permite la caracterización de la misma. En el caso de esta población, permite conocer su comportamiento en campo, pudiendo clasificar cada una de las líneas respecto a las demás. Así, y coincidiendo con el dendograma obtenido, la mayor parte de las líneas doble haploides mostraron valores que no difieren significativamente de los observados en el parental *Benisants*. Solamente el pequeño grupo de líneas

identificado en el otro brazo principal del dendograma mostró de forma consistente valores similares al otro parental, *GV*.

El desarrollo de la planta de arroz depende en gran medida de las condiciones ambientales, variando algunos de los principales caracteres, sobre todo, en función de la temperatura. Así, se ha observado que al aumentar esta, las plantas presentan un mayor ahijamiento (Guimaraes, 2009). En nuestro ensayo, las temperaturas mínimas medias más bajas durante el inicio del cultivo en el año 2010, afectaron al crecimiento de las líneas provocando un menor desarrollo del ahijamiento que afectó a la heredabilidad del carácter.

En el ensayo de 2010 se produjo en la parcela de ensayo un ataque de *Pyricularia*, lo cual permitió evaluar el comportamiento de las líneas en esas condiciones. Se determinó, para cada planta, el nivel de daños verificando la presencia de manchas necróticas en el nudo de la panícula; se anotó el porcentaje afectado sobre el total de las panículas. Solo se evaluó este punto de ataque, frente a otras evaluaciones en hoja o tallo porque es el más crítico a nivel productivo, al afectar a toda la panícula.

Para la realización del estudio estadístico, se han dividido las variables evaluadas en dos apartados, según se evalúen sobre la población completa (121 líneas), o sobre la población escogida tras el estudio genético (55 líneas).

El efecto del Año, de la Línea y la interacción de ambas (Año x Línea) es estadísticamente significativo prácticamente en todas las variables estudiadas. La media de los cuadrados expresa la existencia de diferencias estadísticamente significativas tanto entre las Líneas (121), Años de ensayo (2), y en la interacción Año x Línea para casi todas las variables evaluadas.

En referencia a la interacción entre Líneas, todas las variables presentan diferencias significativas, destacando el resultado obtenido en la media de los cuadrados de la variable Altura al Nudo, que supera en 5 veces el valor obtenido por la siguiente variable. Esto es comprensible, ya que es la variable con mayor diferencia entre parentales.

Tabla 3. Valor F y su significación de los efectos fijos para el análisis conjunto de 121 genotipos, en dos años, de acuerdo a un modelo mixto.

TERMINO	g.l.	AN	LP	NT	PG	PT	IC	DE
Año	1	68,13**	11,57**	127,59**	38,50**	26,22**	13,17**	380,16**
Línea	120	99,58**	5,99**	3,14**	5,39**	7,84**	18,64**	16,15**
Año x Línea	120	1,79**	0,87ns	1,60**	2,57**	2,53**	2,42**	1,37ns
sed genotipo		1,761	0,691	2,918	10,12	14,86	18,47 x 10-3	1,069
CV (%)		6,6	9,8	15,5	18,2	16,3	6,5	2,4

g.l.: grados de libertad

sed genotipo: error estándar de la diferencia entre medias de los genotipos

CV (%): Coeficiente de Variación (en%)

AN: Altura desde la base de la planta hasta el nudo de la panícula principal (en cm)

LP: Longitud media de la panícula principal (en cm)

NT: Número de tallos

PG: Peso medio total de grano por planta (en gr)

PT: Peso medio total por planta (en gr)

IC: Cociente entre el peso de grano (PG) y el peso total de planta (PT). En inglés, HI

DE: Días transcurridos desde la siembra hasta el 50 % del espigado

ns: no significativo.

* Nivel de significación $p < 0,05$

** Nivel de significación $p < 0,001$

*** Nivel de significación $p < 0,0001$

En cuanto al efecto del Año, la media de los cuadrados también es estadísticamente significativa en casi todos los parámetros, presentando además, los mayores valores respecto a otros efectos estudiados. Esta mayor magnitud se explica por las diferencias climáticas observadas entre los dos años de cultivo del ensayo. La única variable que no es significativa es el Número de Granos Totales por panícula, lo que indica un fuerte componente genético en este parámetro, no afectado por el efecto del ambiente, tal y como ocurre con los otros parámetros.

Tabla 4. Valor F y su significación de los efectos fijos para el análisis conjunto de 55 genotipos, en dos años, de acuerdo a un modelo mixto.

TERMINO	g.l.	NGR	NGRLL	% LL	P100S
Año	1	4,82 ^{ns}	8,92 ^{**}	15,40 ^{**}	45,24 ^{**}
Línea	90	13,66 ^{**}	8,46 ^{**}	5,42 ^{**}	9,90 ^{**}
Año x Línea	60	2,42 ^{**}	2,13 ^{**}	1,88 ^{**}	3,78 ^{**}
sed genotipo	-	7,533	7,597	2,036	70,04 x 10 ⁻³
CV (%)	-	11,0	12,1	4,9	4,7

g.l.: grados de libertad

sed genotipo: error estándar de la diferencia entre medias de los genotipos

CV (%): Coeficiente de Variación (en%)

sed genotipo: error estándar de la diferencia entre medias de los genotipos

NGR: Número medio de granos totales por panícula

NGRLL: Número medio de granos llenos totales por panícula

%LL: Porcentaje de granos llenos respecto a granos totales por panícula

P100S: Peso de 100 semillas (en gr)

ns: no significativo.

* Nivel de significación p<0,05

** Nivel de significación p<0,001

***Nivel de significación p<0,0001

Por último, la interacción Año x Línea presentó los valores más inferiores de la media de los cuadrados, siendo no significativo el efecto en 2 características: longitud de panícula y días hasta floración. Por ello, se decidió elaborar la media de todos los valores existentes para cada una de las líneas del ensayo. (G. Borrás et al, 2009)

Un indicador efectivo del error experimental cometido en el ensayo es el valor del Coeficiente de Variación (CV). Su fórmula expresa la desviación estándar como porcentaje de la media aritmética, mostrando una mejor interpretación porcentual del grado de variabilidad que la desviación típica o estándar. A mayor valor del coeficiente de variación mayor heterogeneidad de los valores de la variable; y a menor CV, mayor homogeneidad en los valores de la variable. La experiencia de los científicos, acumulada a través de años de ensayos, indica que cuanto menor es el CV, menor es el error estándar. Un valor óptimo oscila entre el 10 y el 16%. En este caso, el CV de la mayoría de las variables estudiadas estuvo por debajo del 10%, o presentó valores cercanos, corroborando la efectividad del diseño y los datos obtenidos. Los valores del Coeficiente de Variación (CV) se mantuvieron bajos para todas las variables, tal y como indicaban en sus estudios Kiriakou y Fasoulas (1985) y Fasoula (1988).

Para la simplificación de la presentación de los resultados, se realizaron histogramas de representación de las medias de los valores obtenidos en la evaluación de las líneas, (incluyendo los 2 años de ensayo), que se exponen junto a cada una de las características. El estudio detallado de cada una de las variables también revela la distribución normal de los resultados, tal y como obtuvieron Kiriakou y Fasoulas (1985)

4.2.1. ALTURA AL NUDO PRINCIPAL

Se obtuvieron tres grupos claramente diferenciados entre ellos dentro de una amplitud de medidas que oscilan desde los 52,36 a los 95,08 cm (50 a 60 cm, 65 a 70 cm, 80 a 95 cm). La mayoría de las líneas del ensayo, dentro de la cual se sitúan también la variedad de referencia *Gleva* y el parental *Benisants* se situaron en los valores más bajos obtenidos. El resto de líneas

obtuvieron una altura al nudo diferente significativamente a este gran grupo, y similar al otro parental, *GV*.

Este carácter presentó una heredabilidad muy alta, y un error estándar de la diferencia muy bajo, por lo que se trata de una característica muy estable y no influyente por los efectos ambientales.

4.2.2. LONGITUD DE LA PANÍCULA PRINCIPAL

La variedad de referencia *Gleva* presentó el valor mínimo de longitud de panícula en ambos años de ensayo, (13,32 cm), frente al parental *GV* con el valor máximo, (20,43 cm), situándose el otro parental, *Benisants*, entre los valores medios de la tabla. La diferencia entre los dos extremos supuso un aumento de un 53 % en la longitud de la panícula.

Los valores obtenidos siguieron una distribución normal con valores muy cercanos entre cada una de las líneas de ensayo.

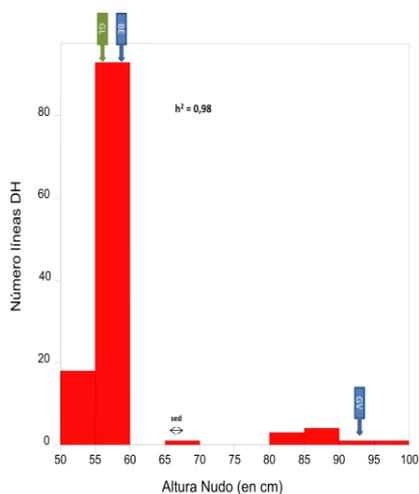


Figura 15. Histograma de la altura al nudo (cm)

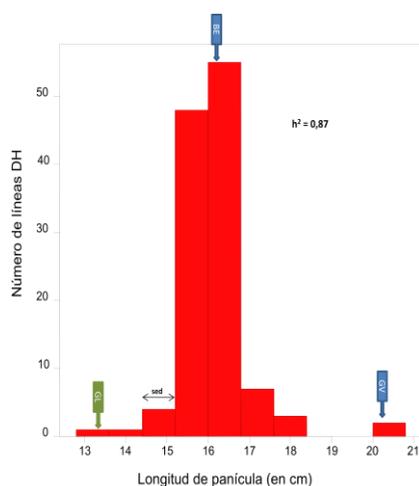


Figura 16. Histograma de la longitud de panícula (cm)

4.2.3. NÚMERO DE PANÍCULAS POR PLANTA

El número de panículas es uno de los componentes del rendimiento más importante.

En este caso, las diferencias en los valores observados en campo fueron evidentes, con una diferencia de un 33 % entre los valores extremos. El error estándar de la diferencia de medias fue muy elevado y la heredabilidad observada fue la menor obtenida, lo que supone que se trata de una variable con un efecto ambiental muy alto. De hecho, no se pudieron concluir diferencias entre los dos parentales, ya que la diferencia fue menor al doble de dicho error.

Respecto a las variedades utilizadas, el parental *GV* obtuvo uno de los valores más bajos (34,70 panículas), el parental *Benisants* se situó en mitad de la tabla, y la variedad de referencia *Gleva* obtuvo los valores más altos de las tres (43,62 panículas).

4.2.4. PESO DE GRANO POR PLANTA

La variable Peso de Grano expresada en gramos obtenidos por planta, es la variable resultado, y más importante de un cultivo.

Se obtuvieron diferencias significativas entre los dos años de ensayo, siendo los valores medios obtenidos en 2010 un 20 % menores respecto a los obtenidos en el año 2009. En el año 2009, la diferencia entre el valor mínimo y el valor máximo fue cercana al doble. En el año 2010, sin embargo, esta diferencia fue de menor rango y los valores obtenidos oscilaron un 60% entre el valor mínimo y el valor máximo. Esta circunstancia, antes explicada, es consecuencia de la diferencia entre la fecha de trasplante y las condiciones climáticas más favorables ocurridas durante el año 2009.

Paralelamente, el error estándar de la diferencia también es elevado indicando una gran variabilidad entre los valores medidos, y a la vez, la heredabilidad es relativamente baja.

Sobre las medias calculadas, los valores oscilaron desde los 90,01 g hasta los 161,19 g, con una diferencia del 79 % entre ambos. Los valores más elevados mostraron una discontinuidad con el resto de las líneas.

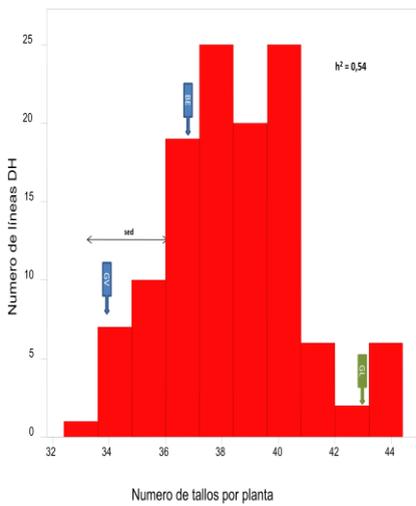


Figura 17. Histograma del número medio de tallos por planta

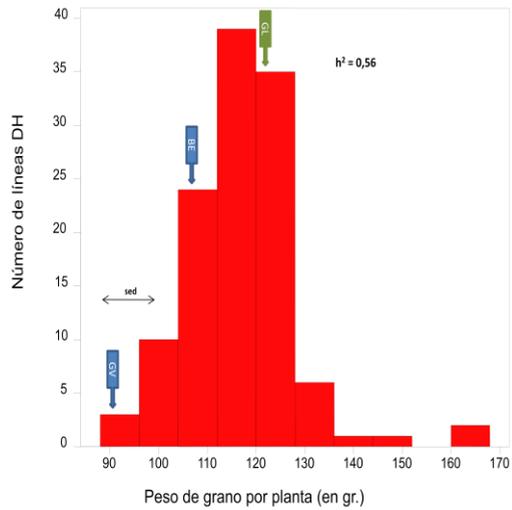


Figura 18. Histograma del peso medio de grano por planta

4.2.5. PESO TOTAL DE LA PLANTA

El Peso Total de la planta, o biomasa total, es un parámetro indicado por algunos investigadores como referencia para la selección de genotipos. Este valor se obtiene como el resultado de la suma del valor del Peso de Grano más el valor del Peso de la Paja para cada una de las plantas del ensayo.

En este caso, los valores obtenidos se correspondieron con los valores del Peso de Grano, obteniendo una diferencia entre el valor máximo (268,64 g) y el mínimo (150,31 g) del 78 %. Los valores de la F obtenidos fueron similares a los obtenidos por la variable Peso de Grano en la interacción Año x Línea, indicando también una significación grande. En el año 2009, la amplitud entre los valores máximo y mínimo obtenidos oscila el doble, mientras que en el año 2010 esta amplitud solo alcanza el 70 % de la diferencia.

La mayoría de las líneas se agrupan entre los dos parentales, sesgados hacia uno de los dos, en este caso, *Benisants*.

4.2.6. INDICE DE COSECHA

El Índice de Cosecha (Harvest Index, HI) mide la eficacia de cada una de las líneas en la producción de grano respecto a la biomasa total producida.

El error estándar de la diferencia es bajo y la heredabilidad elevada (88%), lo que indica que podría ser un parámetro indirecto fiable y estable para la evaluación del potencial productivo de una línea de mejora.

La diferencia entre el valor inferior y el superior osciló un 65%, los valores obtenidos siguen una progresión discontinua, con el parental *GV* en un extremo de la gráfica, aislado del resto de líneas, y la mayoría de las restantes líneas con valores similares al otro parental, *Benisants*.

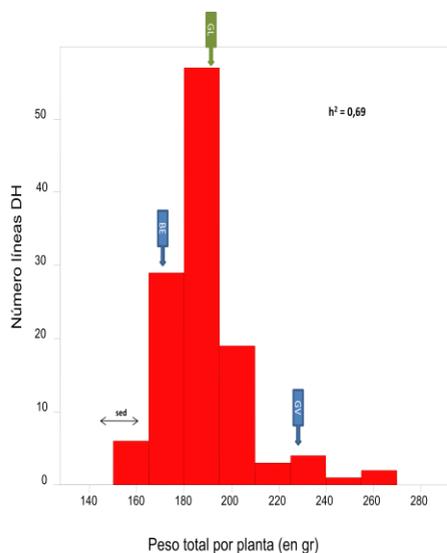


Figura 19. Histograma del peso total por planta

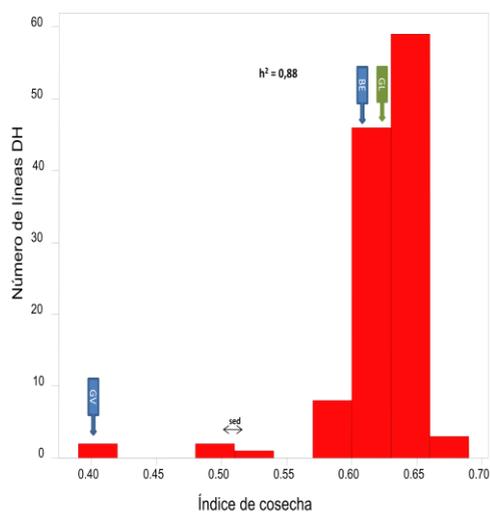


Figura 20. Histograma del Índice de Cosecha (HI)

4.2.7. DÍAS A 50 % ESPIGADO

El número de días desde la siembra hasta al 50% de espigado es un parámetro indicativo del ciclo de cada variedad.

En esta población se ha comportado como un parámetro muy estable, presentando el valor del CV más bajo, al igual que el valor del error estándar de la diferencia. Asimismo, la heredabilidad fue muy alta. La unión de estos tres indicadores confirman que este parámetro es uno de los más estables en condiciones de cultivo similares.

En este conjunto de líneas, la mayoría han presentado valores sesgados hacia el parental *Benisants*, (97,13 días), con valores inferiores, mientras la variedad *GV* está sesgada hacia valores mayores, (109,17 días), e independiente

del resto de líneas. Además, existe un pequeño grupo con similitud genética a *GV*, que presentan valores discontinuos entre ambos grupos.

4.2.8. PESO DE 100 SEMILLAS

Este parámetro es estable. En este ensayo, el efecto del Año, la Línea y la interacción de ambos resultó estadísticamente significativo al nivel del 1 %.

Los valores obtenidos por las líneas han seguido una distribución normal, excepto tres líneas que presentaron valores anormalmente bajos y alejados de los dos parentales. La diferencia entre la línea con el menor valor y la línea con el mayor valor es del 26 %. En el caso de los dos parentales, esta diferencia no es mayor del doble que el error estándar de la diferencia, por lo que no hay diferencias entre ambos respecto a este carácter (3,35 g la variedad *Benisants* y 3,47 g la variedad *GV*).

La variación observada entre las líneas es muy amplia cubriendo todo el arco existente entre los dos parentales.

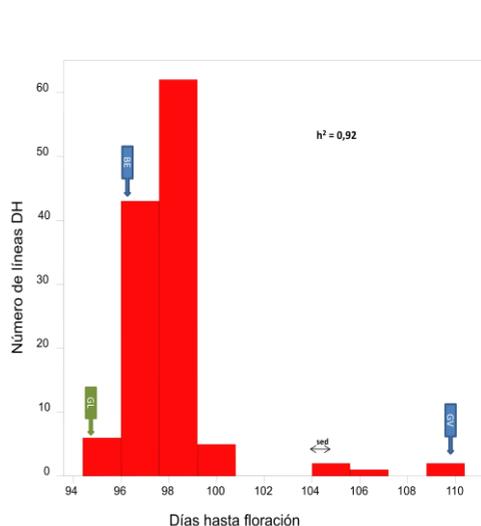


Figura 21. Histograma de la media de días hasta 50 % floración

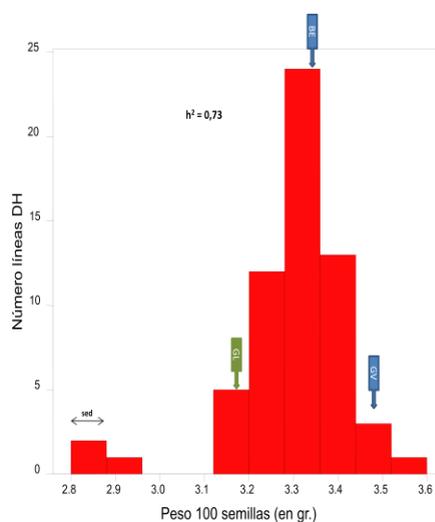


Figura 22. Histograma del Peso de 100 semillas (g)

4.2.9. NÚMERO MEDIO TOTAL DE GRANOS POR PANÍCULA –

NÚMERO MEDIO TOTAL DE GRANOS LLENOS POR PANÍCULA

Estos dos parámetros siguen un comportamiento muy similar, tal y como indican los histogramas correspondientes. Estas dos características están muy relacionadas, y son consideradas como unos de los componentes del rendimiento más importantes.

Los valores obtenidos fueron bastante estables durante los dos años. Aun habiendo diferencias en los valores obtenidos entre cada uno de los dos años, la media interanual sigue una distribución normal. Destaca la gran diferencia entre los valores extremos de ambos parámetros, que alcanza un 61 % en el Número de granos, y un 58 % en el Número de Granos Llenos.

El grupo de líneas genéticamente similares al parental *GV* alcanzaron los valores más elevados, existiendo una discontinuidad con el resto de líneas.

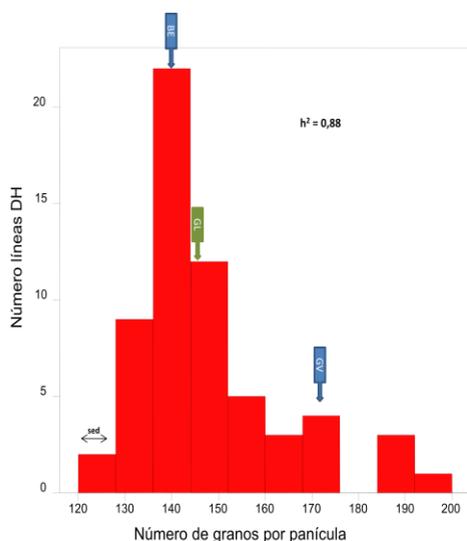


Figura 23. Histograma del número total de granos por panícula

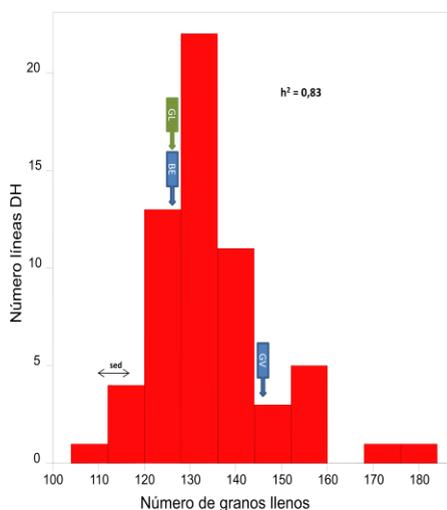


Figura 24. Histograma de número medio de granos llenos por panícula

4.2.10. PORCENTAJE MEDIO DE GRANOS LLENOS POR PANÍCULA

Las diferencias observadas entre Líneas y entre Años de ensayo son estadísticamente significativas. Los valores obtenidos presentaron un sesgo hacia el parental *Benisants*.

Este parámetro indica la relación entre las dos características anteriores. La relación media entre ambos parámetros es del 91 % de Granos Llenos respecto al Número Medio Total de Granos por Panícula.

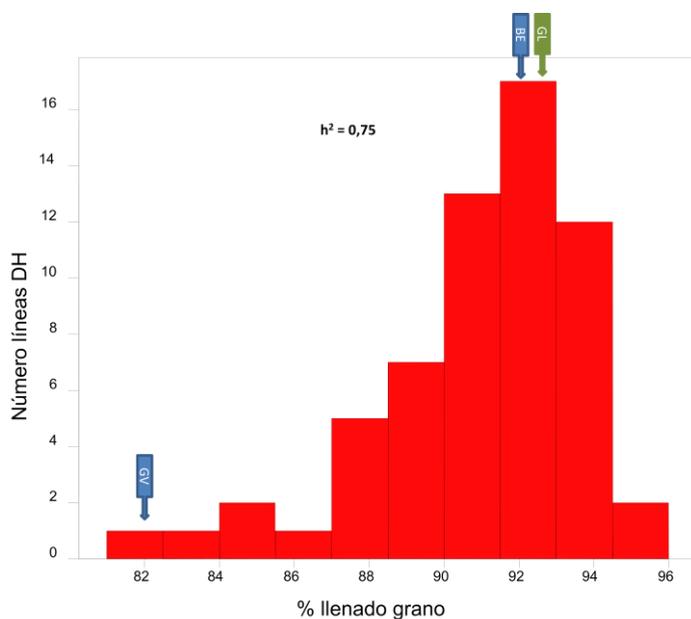


Figura 25. Histograma del porcentaje medio de granos llenos por Panícula (%)

4.2.11. NECROSIS EN EL NUDO DE LA PANÍCULA

En el año 2010 se produjo un ataque severo del hongo *Pyricularia* (*Magnaporthe grisea*). Esta circunstancia permitió la realización de una

evaluación del número de nudos de panícula afectados por el hongo, ya que es el órgano que más afecta al rendimiento productivo. La inclusión de la mayor tolerancia al hongo presentada por el parental GV era uno de los objetivos buscados en la realización de este cruzamiento, y se debía conocer si el ensayo era capaz de encontrar diferencias significativas entre las líneas utilizadas.

Los valores obtenidos por las líneas siguen una distribución normal, y los dos parentales presentan una diferencia superior al doble del error estándar.

Los valores mínimos fueron obtenidos por el subgrupo genético más similar al parental *GV*, y el mayor por la variedad de referencia *Gleva*, que obtuvo un valor 10 veces superior. El resultado obtenido por el parental *Benisants* se situó entre los valores medios.

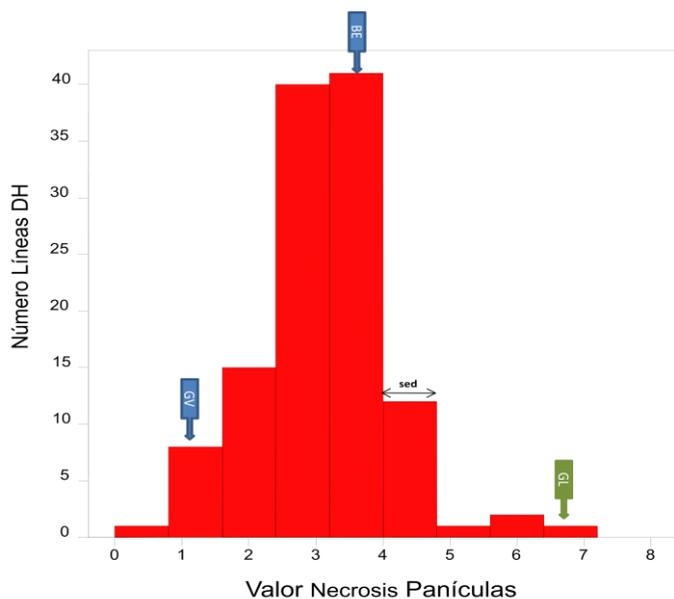


Figura 26. Histograma del porcentaje de cuellos de panícula afectados por *Pyricularia* (%)

Aunque los resultados solo pudieron ser evaluados un año entre todos los años que se realizaron ensayos de campo, el valor F del ensayo determinó un nivel de significación inferior al 0,001. Estos resultados corroboraron que este diseño también es capaz de discriminar las líneas con una mayor sensibilidad a *Pyricularia* aunque el marco de plantación utilizado no simule las condiciones normales de cultivo.

NECROSIS NUDO PANÍCULA PRINCIPAL AÑO 2010

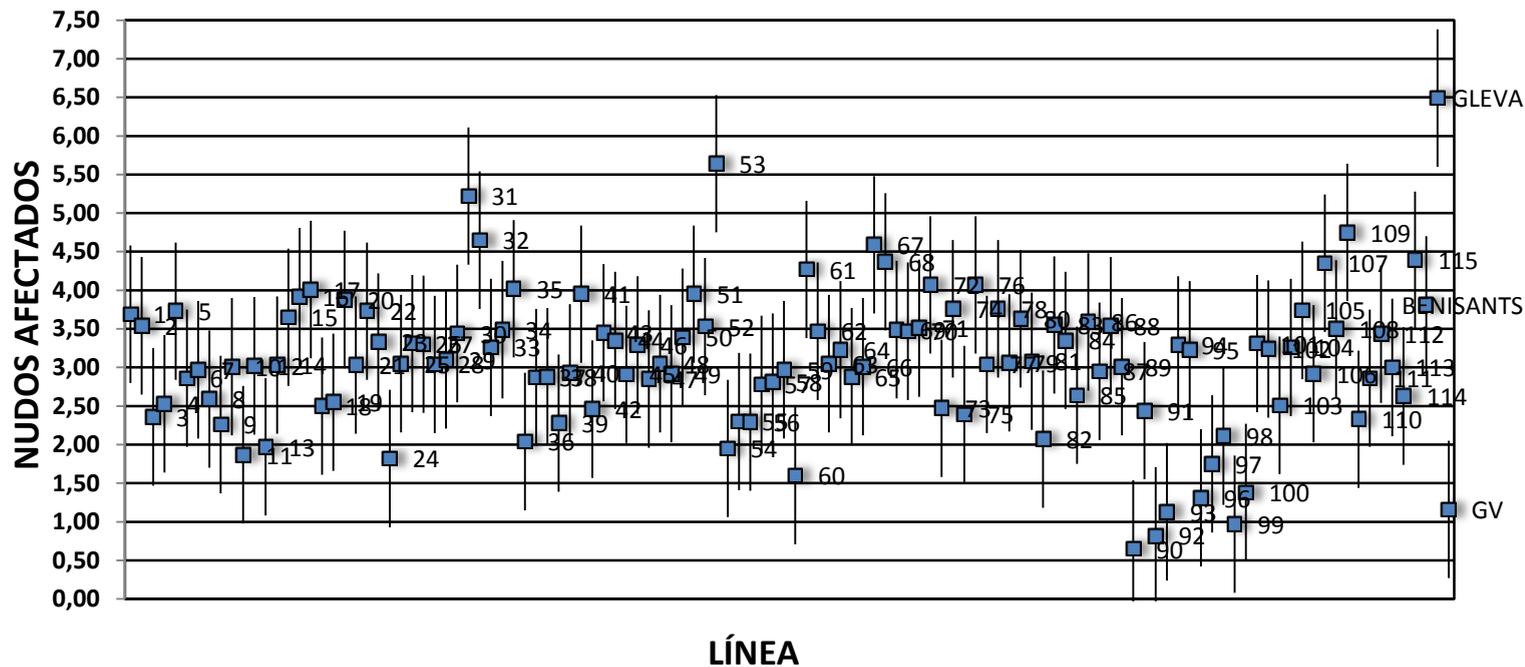


Figura 27. Valores medios del número de nudos de la panícula principal afectados por *Pycularia* en el año 2010.

Todos los caracteres heredables son influenciados por el ambiente, y el concepto de heredabilidad se refiere a qué proporción de la varianza fenotípica se debe a la varianza genotípica. El concepto de heredabilidad es muy útil para los mejoradores, pues es importante conocer si un carácter que se busca, es debido más a genotipo o más a ambiente, es decir, si es heredable. Cuando se obtiene la heredabilidad genética de los diferentes caracteres y las correlaciones entre ellos, el incremento del rendimiento total puede ser más sencillo utilizando la selección indirecta a través de los componentes del rendimiento, ya que estos normalmente presentan unos valores mayores respecto al rendimiento propiamente dicho (Diz and Schank, 1995; Rebetzke et al, 2002; Ukaoma AA et al, 2013).

Al igual que en Sibori et al (1978) en un estudio realizado con una población de cacahuete, las heredabilidades observadas en algunos de los componentes del rendimiento son altas.

En nuestro caso, las condiciones ambientales diferentes producidas en los años 2009 y 2010 han propiciado la diferenciación clara de aquellas características que son estables en condiciones menos favorables al desarrollo vegetativo de la planta de arroz, frente a las que son muy afectadas por estas condiciones desfavorables, y por tanto, no serían idóneas para una selección directa de genotipos.

Las variables más estables y con una heredabilidad más alta fueron Altura al Nudo y Días hasta 50% floración con valores superiores al 90%, y las variables Número de tallos y Peso de Grano han sido las más afectadas.

Los componentes principales del rendimiento, que podrían utilizarse para la realización de una selección indirecta (Yoshida, 1981) obtuvieron valores de la heredabilidad desiguales: Número panículas, 54%; Número medio

de granos por panícula, 88%; Número de granos llenos por panícula, 83%; Peso de 100 semillas, 73%.

Estos valores indican que la evaluación de tres de los principales componentes del rendimiento se podría utilizar en un programa de mejora con un elevado porcentaje de mantenimiento del carácter entre generaciones.

En todo caso, el diseño del ensayo en planta aislada y con parcela elemental de una única planta discriminó las diferencias entre líneas, incluso en un carácter tan dependiente de las condiciones ambientales y de cultivo como fue la incidencia de *Pyricularia* en el nudo del cuello de la panícula.

Un diseño bien elaborado debe permitir seleccionar los mejores fenotipos, ya que esto puede implicar también la selección de los mejores genotipos, los mejores ambientes y las interacciones entre ambos (Mariotti, 1986).

4.3. COMPARACIÓN DE LOS VALORES ESTADÍSTICOS ENTRE DISEÑO BALANCEADO Y DISEÑO NO BALANCEADO

Los diseños en lattice más utilizados incluyen diseños equilibrados, y diseños parcialmente equilibrados. La diferencia entre ambos se da en el número de repeticiones. En el primer caso, el número de repeticiones es una más que el tamaño de bloque. Sin embargo, en los diseños parcialmente equilibrados, se puede utilizar cualquier número de repeticiones (Raza y Masood, 2009).

Para el análisis del ensayo no balanceado con 8 repeticiones se eligieron las repeticiones 1, 2, 4, 6, 8, 10, 11 y 12. Para el análisis del ensayo no balanceado con 4 repeticiones se eligieron las repeticiones 2, 6, 8 y 10, de entre las previamente elegidas. La elección de estas repeticiones se realizó al azar entre dos series de pares o impares.

La representación de los datos se ha dividido en dos tablas:

1. en la primera, el estudio de los caracteres se realizó sobre toda la población de las 121 líneas,
2. en la segunda, el estudio de los caracteres se realizó sobre la subpoblación de 55 líneas previamente seleccionada.

Se han detallado los valores de la F obtenidos en el análisis de cada uno de los estudios realizados, junto al grado de significación que suponen, agrupando los valores a las interacciones del ensayo (Año, Línea, Año x Línea). Además, se ha indicado el error estándar de la diferencia (sed) y el Coeficiente de Variación (CV) de cada uno de los ensayos.

Tabla 5. Valor F y su significación de los efectos fijos para el análisis conjunto de 121 genotipos, en dos años, de acuerdo a un modelo mixto.

TERMINO	N.Rep.	AN	LP	NT	PG	PT	IC	DE
Año	12 rep.	68,13**	11,57**	127,59**	38,50**	26,22**	13,17**	380,16**
	8 rep.	58,92**	8,12 ^{ns}	61,19**	20,59**	14,54 ^{ns}	7,29 ^{ns}	275,88**
	4 rep.	36,14**	4,43 ^{ns}	49,64**	16,01**	7,75 ^{ns}	19,61**	207,61**
Línea	12 rep.	99,58**	5,99**	3,14**	5,39**	7,84**	18,64**	16,15**
	8 rep.	65,72**	4,06**	2,25**	3,52**	4,91**	12,80**	10,14**
	4 rep.	24,04**	2,76**	1,39**	2,06**	2,70**	7,08**	6,44**
Año x Línea	12 rep.	1,79**	0,87 ^{ns}	1,60**	2,57**	2,53**	2,42**	1,37 ^{ns}
	8 rep.	1,48**	0,67 ^{ns}	1,49**	2,02**	1,92**	1,98**	1,33 ^{ns}
	4 rep.	1,03 ^{ns}	0,83 ^{ns}	1,53**	1,61**	1,62**	1,31 ^{ns}	1,16 ^{ns}
sed genotipo	12 rep.	1,76	0,69	2,92	10,12	12,23	18,47 x 10 ⁻³	1,07
	8 rep.	1,45	0,59	2,37	8,33	18,04	14,78 x 10 ⁻³	0,90
	4 rep.	2,37	0,86	3,36	12,39	2,56	21,73 x 10 ⁻³	1,26
CV (%)	12 rep.	6,6	9,8	15,5	18,7	16,3	6,5	2,4
	8 rep.	6,5	9,8	15,9	18,7	16,9	6,4	2,4
	4 rep.	7,7	9,9	15,8	19,6	17,6	6,4	2,4

sed genotipo: error estándar de la diferencia entre medias de los genotipos

CV (%): Coeficiente de Variación (en%)

AN: Altura desde la base de la planta hasta el nudo de la panícula principal (en cm)

LN: Longitud de la panícula principal (en cm)

NT: Número de tallos

PG: Peso total grano medio por planta (en g)

PT: Peso total medio por planta (en g)

IC: Cociente entre el peso de grano (PG) y el peso total de planta (PT). En inglés, HI

DE: Días transcurridos desde la siembra hasta el 50 % del espigado

ns: no significativo.

* Nivel de significación p<0,05

** Nivel de significación p<0,001

***Nivel de significación p<0,0001

Tabla 6. Valor F y su significación de los efectos fijos para el análisis conjunto de 55 genotipos, en dos años, de acuerdo a un modelo mixto.

TERMINO	N.Rep.	NGR	NGRLL	% LL	P100S
Año	12 rep.	4,82 ^{ns}	8,92 ^{**}	15,40 ^{**}	45,24 ^{**}
	8 rep.	1,13 ^{ns}	2,74 ^{ns}	10,89 [*]	28,39 ^{**}
	4 rep.	1,81 ^{ns}	6,19 ^{ns}	4,32 ^{ns}	17,51 [*]
Línea	12 rep.	13,66 ^{**}	8,46 ^{**}	5,42 ^{**}	9,90 ^{**}
	8 rep.	10,22 ^{**}	6,62 ^{**}	4,45 ^{**}	7,74 ^{**}
	4 rep.	7,46 ^{**}	4,62 ^{**}	3,28 ^{**}	5,39 ^{**}
Año x Línea	12 rep.	2,42 ^{**}	2,13 ^{**}	1,88 ^{**}	3,78 ^{**}
	8 rep.	2,42 ^{**}	2,32 ^{**}	1,62 [*]	2,24 ^{**}
	4 rep.	1,51 ^{ns}	1,71 ^{**}	1,57 ^{ns}	1,96 ^{**}
sed genotipo	12 rep.	7,53	7,60	2,04	70,04 x 10 ⁻³
	8 rep.	6,21	6,27	1,74	61,19 x 10 ⁻³
	4 rep.	8,74	8,88	2,56	7,8 x 10 ⁻³
CV (%)	12 rep.	11,0	12,1	4,9	4,7
	8 rep.	11,1	12,2	4,9	4,7
	4 rep.	10,3	11,5	5,1	4,4

sed genotipo: error estándar de la diferencia entre medias de los genotipos

CV (%): Coeficiente de Variación (en%)

NGR: Número de granos totales medio por panícula

NGRLL: Número de granos llenos totales medio por panícula

%LL: Porcentaje de granos llenos respecto a granos totales por panícula

P100S: Peso de 100 semillas (en gr)

ns: no significativo.

* Nivel de significación p<0,05

** Nivel de significación p<0,001

***Nivel de significación p<0,0001

La disminución de las repeticiones utilizadas en un 33% y un 66 % respecto al número inicial, provoca un descenso del valor F y, por tanto, un valor p mayor. La consecuencia inmediata es la pérdida de significación en varias de las características de las plantas estudiadas.

La disminución observada no fue idéntica en todos los términos. Las diferencias más acusadas en nivel de significación se dieron en la interacción Año x Línea, donde al disminuir el número de repeticiones, no se pudo asumir que existan diferencias significativas en algunas variables como: Altura Nudo, Índice de Cosecha, Número de granos llenos y % granos llenos.

Aún así, las diferencias observadas entre líneas fueron estadísticamente significativas en todas las variables, lo que indica que se hubiera podido realizar el ensayo utilizando el diseño no balanceado, obteniendo los mismos resultados.

Paralelamente, el error estándar de la diferencia aumentó conforme disminuyó el número de repeticiones utilizado, indicando que las diferencias observadas pudieran deberse más probablemente a un error de medición, que a una verdadera diferencia entre las líneas del ensayo.

Sin embargo, los valores del Coeficiente de Variación permanecieron estables en los tres casos.

El diseño empleado debe ser capaz de cuantificar el valor de la heredabilidad de cada variable durante todo el proceso selectivo. En nuestro caso, en el diseño balanceado, los valores obtenidos de la heredabilidad son muy altos en muchas de las características estudiadas, excepto en la variable Rendimiento en grano y en la variable Número de tallos, resultados influidos por las diferencias climáticas.

Los valores respectivos de todos los caracteres no efectuaron una gran variación al disminuir las repeticiones utilizadas, circunstancia que se suma al

mantenimiento de la significación estadística discutida anteriormente, para confirmar que el diseño del ensayo ha sido capaz de discriminar las diferencias entre las líneas en todas las variables estudiadas y con todas las opciones de diseño estudiadas: 12, 8 y 4 repeticiones, demostrando la fortaleza del ensayo.

Tabla 7. Valores de la heredabilidad obtenida por las variables estudiadas según el número de repeticiones utilizadas en el estudio.

HEREDABILIDAD	12 REPETICIONES	8 REPETICIONES	4 REPETICIONES
AN	0,98	0,98	0,98
LP	0,87	0,73	0,73
NT	0,54	0,42	0,16
PG	0,56	0,47	0,36
PT	0,69	0,62	0,53
IC	0,88	0,86	0,89
DE	0,92	0,88	0,89
NGR	0,88	0,84	0,89
NGRLL	0,83	0,76	0,77
% LL	0,75	0,74	0,68
P100S	0,73	0,79	0,76

AN: Altura desde la base de la planta hasta el nudo de la panícula principal (en cm)

LP: Longitud media de la panícula principal (en cm)

NT: Número de tallos

PG: Peso medio total de grano por planta (en gr)

PT: Peso medio total por planta (en gr)

IC: Cociente entre el peso de grano (PG) y el peso total de planta (PT). En inglés, HI

DE: Días transcurridos desde la siembra hasta el 50 % del espigado

NGR: Número de granos totales medio por panícula

NGRLL: Número de granos llenos totales medio por panícula

%LL: Porcentaje de granos llenos respecto a granos totales por panícula

P100S: Peso de 100 semillas (en gr)

Una de las limitaciones a la disminución de repeticiones es la posible pérdida de datos complementaria si se produce la muerte accidental de alguna planta del ensayo. Al estar formada por una única planta cada repetición, la muerte de la planta disminuye una repetición de la línea afectada.

Un aspecto positivo es el ahorro en costes que supone la disminución de repeticiones, ya que podemos obtener unos resultados significativos utilizando un 33 %, e incluso un 66 % menos recursos.

Al situar los rendimientos, en Grano por Planta, obtenidos por cada línea de ensayo en orden ascendente, las posiciones inferiores y superiores se mantuvieron, lo que demuestra que, aún disminuyendo el número de repeticiones en una tercera parte, el ensayo es capaz de discriminar las mejores líneas, tal y como se indica en la tabla 8.

Tabla 8. Valores del Peso de grano por planta obtenidos por la línea con el resultado inferior, las variedades parentales, la variedad de referencia, y las dos líneas con resultados superiores.

LÍNEAS 12 REP	PESGRA 12 REP. (en g)	LÍNEAS 8 REP	PESGRA 8 REP. (en g)	LÍNEAS 4 REP	PESGRA 4 REP. (en g)
28	90,01	GV	88,33	28	81,92
GV	91,20	28	91,00	GV	85,96
BENISANTS	108,24	BENISANTS	105,27	BENISANTS	109,27
GLEVA	120,42	GLEVA	122,27	GLEVA	124,69
99	160,10	99	155,73	99	150,16
96	161,19	96	155,87	96	159,51

4.4. DETERMINACIÓN DE LA LÍNEA DE ENSAYO CON MAYOR RENDIMIENTO EN GRANO POR PLANTA

El estudio estadístico realizado, usando un modelo mixto que combina los resultados obtenidos en dos años sucesivos de un ensayo en campo, proporciona los valores medios de las principales características de cada línea evaluada. Además, ha demostrado que los valores medios obtenidos por cada una de las líneas dobles haploides presentan diferencias estadísticamente significativas.

En este caso, las 2 líneas con mayor rendimiento medio en grano por planta, han sido las correspondientes a los números 96 y 99 con una diferencia tan pequeña, que son coincidentes en el mismo intervalo de confianza, elaborado con los valores del mismo estudio estadístico. Este rendimiento fue de 161,19 y 160,10 g, respectivamente.

El aumento del rendimiento puede producirse mediante el aumento de la producción de biomasa o del Índice de Cosecha. (Khush, 1995b). En el caso de la variedad de referencia, *Gleva*, este aumento se ha conseguido a través de una elevada relación grano-paja, coincidiendo con Takeda y al (1983) y Evans y al (1984). Sin embargo, las dos líneas seleccionadas con el mayor rendimiento en grano presentan un incremento de biomasa importante respecto a los parentales siguiendo la misma línea que los arrozcs híbridos e indicado por Song y al (1990), Yamauchi (1994) y Peng y al (2000).

Si comparamos la media obtenida por estas dos líneas con el rendimiento de las variedades parentales, y la variedad de referencia, los valores obtenidos han sido claramente superiores, indicado en la tabla 9.

Tabla 9. Valores medios del Peso de grano por planta obtenidos por las dos líneas con el resultado superior, las variedades parentales, y la variedad de referencia.

VARIEDAD	RENDIMIENTO EN GRANO (g)	DIFERENCIA (%)
MEDIA 96-99	160,65	--
BENISANTS	108,24	-32,0
GV	91,20	-43,0
GLEVA	120,42	-25,0

En el caso de los parentales, la variedad *GV* obtuvo el menor peso de grano por planta con 91,20 g, seguido por la variedad *Benisants* con 108,24 g. Estos rendimientos fueron un 43% y un 32% menores, respecto a la media de las dos líneas más productivas.

En último lugar, la variedad de referencia en la zona de Valencia, *Glewa*, ha obtenido el mayor Peso de grano por planta de las tres con 120,42 g., con una diferencia del 25 %, únicamente.

Hay que destacar que estas 2 líneas doble haploides forman parte de un grupo de 4 líneas que se diferencian claramente del resto de líneas ensayadas, y que están situadas en la misma rama del dendograma construido con los datos genéticos obtenidos, y que también incluye a uno de los parentales, la variedad *GV*.

El rendimiento es el resultado de varios componentes. Yoshida (1981) mencionó los siguientes: Número de panículas, número de granos por panícula, porcentaje de granos llenos y peso de 1000 semillas.

Si observamos los valores obtenidos en la evaluación de cada uno de los componentes principales del rendimiento de las líneas indicadas en la tabla de resultados, podemos comprobar que las dos líneas seleccionadas poseen los mayores valores en la mayoría de ellos: Número de granos por panícula, Número de granos llenos por panícula y Peso de 100 semillas.

Tabla 10. Valores de las principales características obtenidos por la línea con el resultado inferior, las variedades parentales, la variedad de referencia, y las dos líneas con resultados superiores.

	96	99	BENISANTS	GV	GLEVA
ALTURA NUDO (cm)	88,66	88,44	57,54	95,08	54,83
NÚMERO TALLOS	40,17	40,27	37,38	34,70	43,62
PESO TOTAL (en g)	268,64	266,88	174,67	227,83	191,47
NÚMERO GRANOS/PANÍCULA	174	196	139	176	145
NÚMERO GRANOS LLENOS	153	177	128	144	128
% GRANOS LLENOS	88,43	90,32	92,16	82,25	88,17
INDICE COSECHA	0,59	0,59	0,62	0,40	0,63
PESO 100 SEMILLAS (en g.)	3,58	3,50	3,35	3,47	3,19
PESO GRANO (en g)	161,19	160,10	108,24	91,20	120,42

La altura media al nudo de la panícula principal de estas dos líneas alcanzó valores muy similares al parental *GV*. Estos valores son elevados, y pueden dificultar su uso como variedad en las actuales condiciones de cultivo, ya que podrían ser susceptibles al encamado precoz, considerado uno de los principales objetivos de selección de los programas actuales de mejora en España.

Respecto al Número medio de tallos observado, también hay una progresión creciente entre las variedades, donde la variedad *GV* tuvo el menor número de tallos, seguida de la variedad *Benisants*, y el mayor número de tallos lo presentó la variedad *Gleva*. Las líneas seleccionadas presentaron valores elevados e intermedios entre las variedades *Benisants* y *Gleva*.

El Peso Total obtenido por las líneas seleccionadas fue superior a los parentales y a la variedad de referencia, *Gleva*, a la que superaron en un 29%, indicando una relación entre el incremento de la biomasa y el rendimiento en grano.

En cuanto al Índice de Cosecha, la única variedad que obtuvo un valor muy bajo fue la variedad *GV*, circunstancia debida a su elevada talla, que se traduce en un elevado peso de la parte vegetativa respecto al rendimiento en grano, que fue el más bajo de la serie de líneas.

Las mayores diferencias entre las variedades y las líneas seleccionadas se dieron en el número medio de granos llenos por panícula. Las variedades *Benisants* y *Gleva* presentaron el mismo valor (128), indicativo de que poseen una panícula corta, mientras que la línea 99 obtuvo un valor superior en un 27% (177). La variedad *GV* presentó un valor intermedio (144).

En cuanto al valor del Peso de 100 semillas, también hubo una progresión entre los valores obtenidos, siendo el valor inferior el de la variedad *Gleva*, y los valores superiores los obtenidos por las líneas de ensayo, 96 y 99. La diferencia entre la media de las dos líneas y esta variedad ha sido de un 10%. Los valores que han tenido las líneas de ensayo fueron más parecidos al que ha presentado el parental *GV*, con el que comparten similitudes genéticas.

Se ha podido observar una cierta similitud en los resultados obtenidos, en alguna de las características descritas, tal y como se aprecia en las gráficas

siguientes, entre las líneas pertenecientes al mismo brazo del dendograma donde se sitúa la variedad GV.

En dos de las cuatro características evaluadas se observó la formación de un grupo similar y claramente diferenciado, compartiendo medidas con prácticamente todas las líneas que pertenecen al mismo brazo del dendograma descrito en el resultado 1 (90, 92, 93, 96, 97, 98, 99).

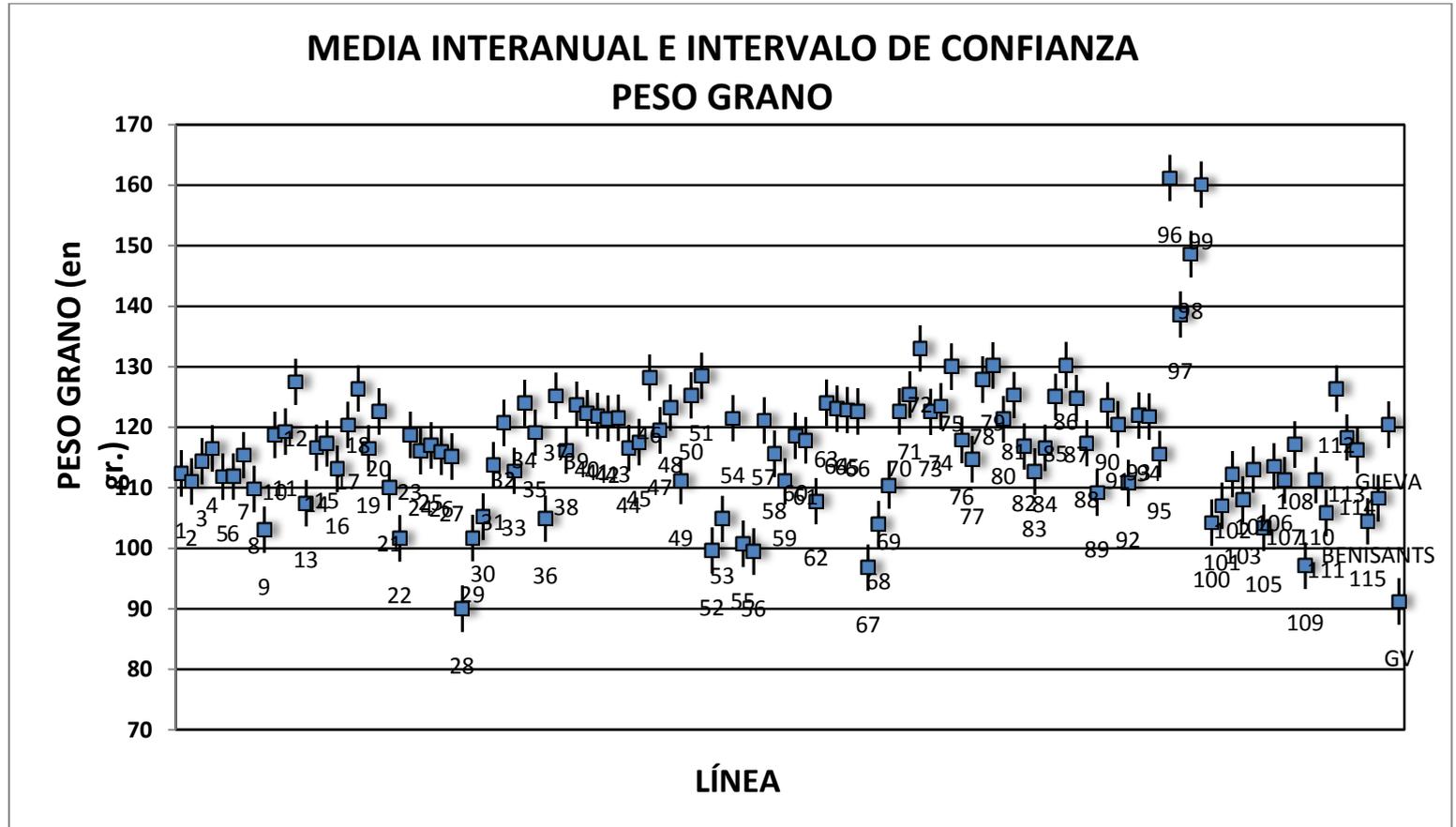


Figura 28. Valores medios interanuales del peso de grano por planta obtenidos por las líneas de ensayo.

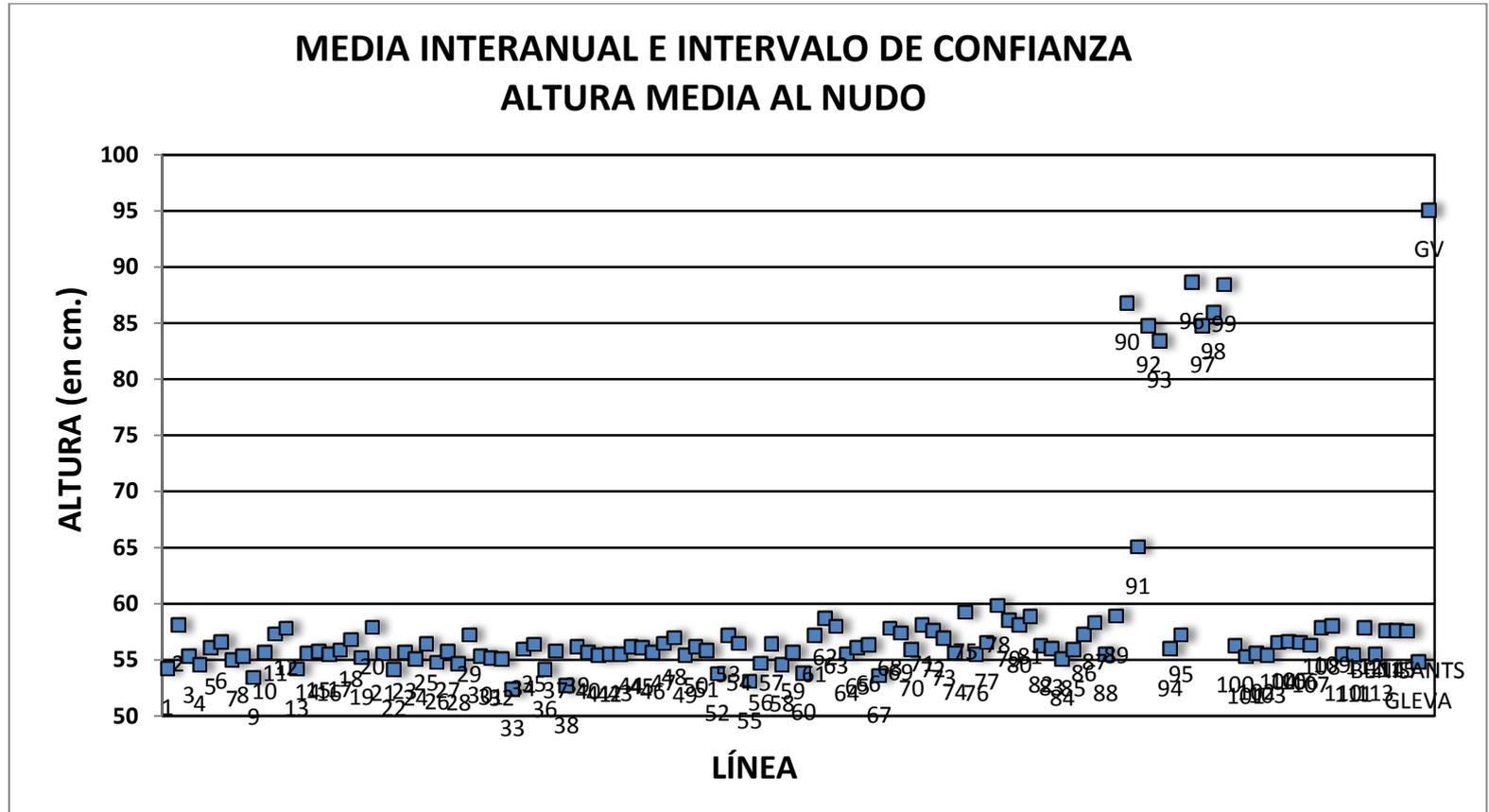


Figura 29. Valores medios interanuales de la altura media al nudo de la panícula principal obtenidos por las líneas de ensayo.

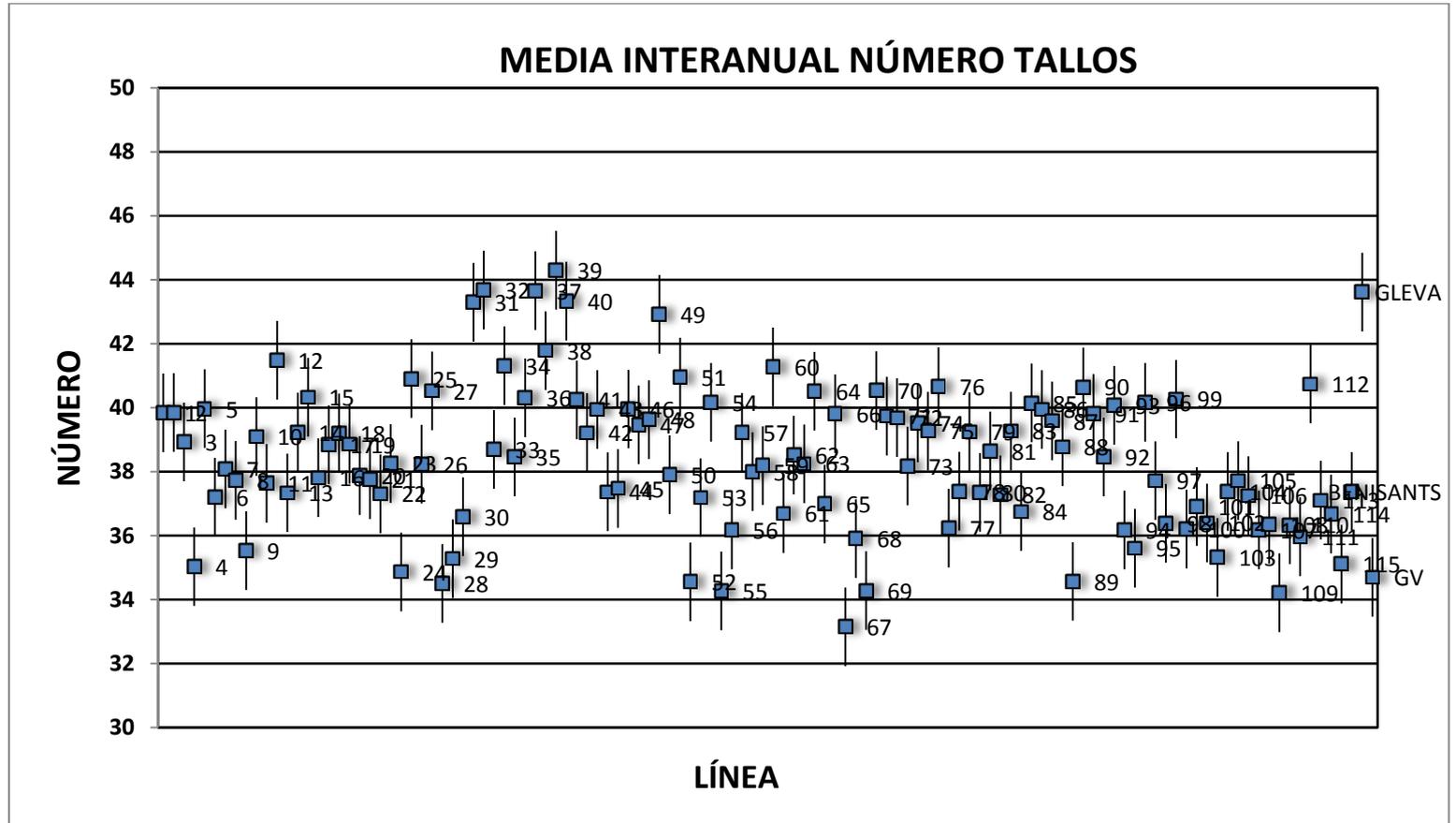


Figura 30. Valores medios interanuales número de tallos por planta obtenidos por las líneas de ensayo.

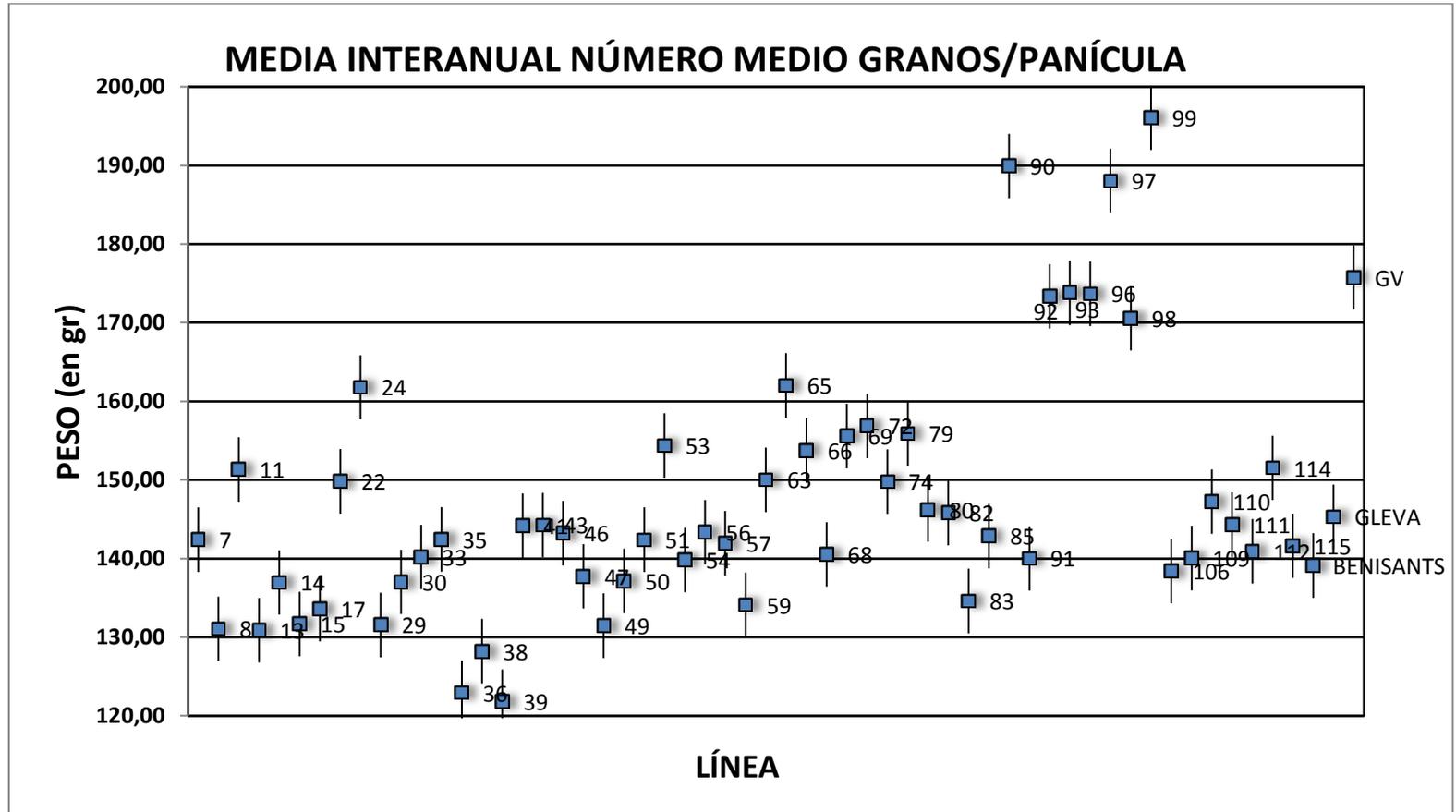


Figura 31. Valores medios interanuales del número de granos por panícula obtenidos por las líneas de ensayo.

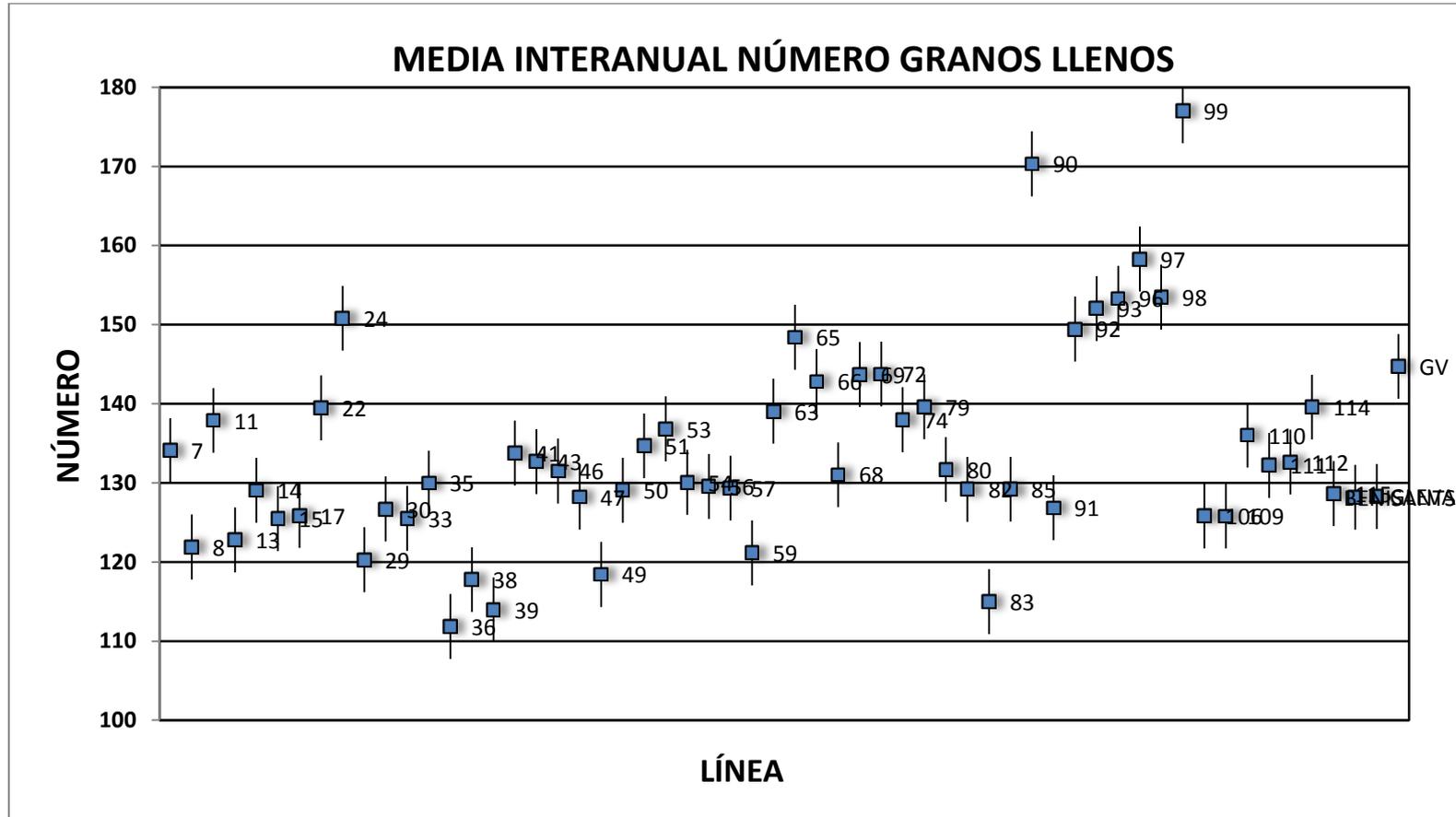
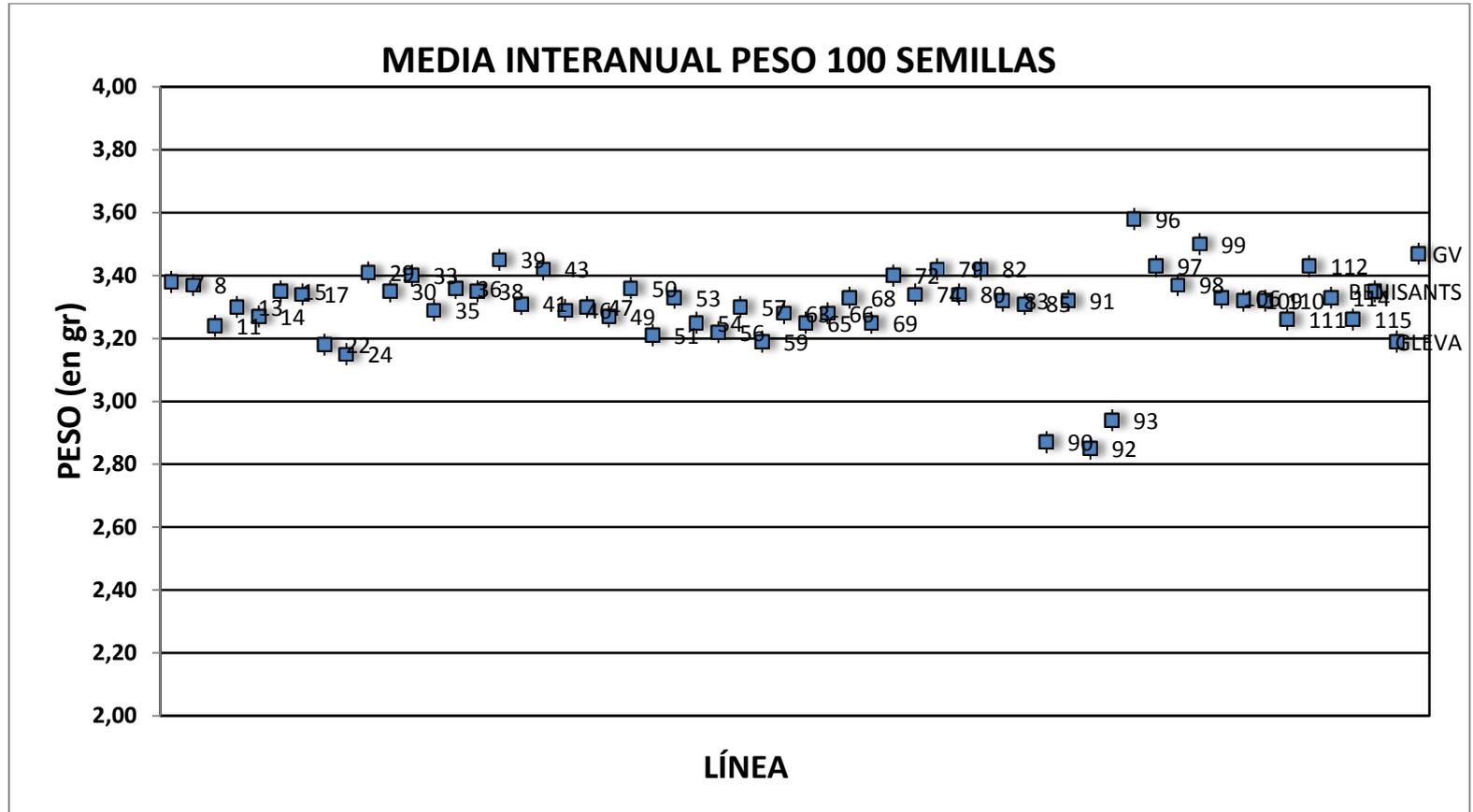


Figura 32. Valores medios interanuales del número de granos llenos obtenidos por las líneas de ensayo.



4.5. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES ÚTILES PARA LA SELECCIÓN INDIRECTA DEL RENDIMIENTO EN GRANO

4.5.1. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE VARIABLES

Algunos autores relacionan el rendimiento en grano con la producción total de biomasa o con el Índice de Cosecha (Harvest Index) (Khush, 1995b; Takeda et al., 1983; Evans et al., 1984).

Diversos investigadores han estudiado la importancia de cada uno de los caracteres, con el fin de obtener las correlaciones entre ellos y entre cualquiera de ellos y el rendimiento potencial (Gravois y Helms, 1992; Ottis y Talbert, 2005; Yong-xiang et al, 2008; Yonezawa, 1997; Well y Faw, 1978; Gravois y McNew, 1993; Ashan et al, 2014; Borbora et al, 2005; Madhavalatha et al, 2005).

Para el estudio de la influencia de cada componente en la variable principal, que es el Rendimiento en grano, se ha utilizado la subpoblación obtenida en el objetivo 1. En esta población de 58 líneas (55 líneas doble haploides, 2 parentales y una variedad de referencia de la zona) se evaluaron, además de los caracteres fenotípicos en campo, una serie de características en laboratorio: Número de granos por panícula, Número de granos llenos por panícula, Porcentaje de granos llenos por panícula y el Peso de 100 granos.

La información de la asociación entre los componentes del rendimiento muestra la naturaleza y la extensión de las relaciones entre ellas. Esto puede ayudar en la mejora simultánea de diferentes caracteres relacionados con el rendimiento en los programas de mejora (Ramakrishnan, S.H. et al, 2006).

En la tabla 11 se muestran las correlaciones de Pearson obtenidas, entre cada par de variables. El rango de estos coeficientes de correlación va de -1 a +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. Aquí se clasificaron por colores para definir la fortaleza de las interrelaciones. Solo se han indicado aquellas correlaciones significativamente diferentes de cero, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 11. Análisis de correlaciones entre las componentes del rendimiento y el rendimiento en grano calculadas sobre la subpoblación obtenida en el objetivo 1.

	ALTNUDO	NUMTALL	NUMGRA	NUMGRLL	PORLLE	PES100	PESTOTAL	INDCOS	PESGRA
ALTNUDO			POSITIVA	POSITIVA	NEGATIVA		POSITIVA	NEGATIVA	POSITIVA
NUMTALL							POSITIVA		POSITIVA
NUMGRA	POSITIVA			POSITIVA	NEGATIVA		POSITIVA	NEGATIVA	POSITIVA
NUMGRLL	POSITIVA		POSITIVA		NEGATIVA		POSITIVA	NEGATIVA	POSITIVA
PORLLE	NEGATIVA		NEGATIVA	NEGATIVA			NEGATIVA	POSITIVA	
PES100								POSITIVA	
PESTOTAL	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA	NEGATIVA			NEGATIVA	POSITIVA
INDCOS	NEGATIVA		NEGATIVA	NEGATIVA	POSITIVA	POSITIVA	NEGATIVA		
PESGRA	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA			POSITIVA		

	sin correlación
	correlación débil: $r = 0$ a $0,35$ // 0 a $-0,35$
	correlación moderada: $r = 0,36$ a $0,67$ // $-0,36$ a $0,67$
	correlación fuerte: $r = 0,68$ a $1,00$ // $-0,68$ a $-1,00$

Del estudio de las correlaciones entre las variables estudiadas en esta población se pueden deducir varios resultados:

- El Peso del Grano por planta está positiva y moderadamente relacionado con la Altura al Nudo, el Número de tallos, el Número de granos totales por panícula y el Número de granos llenos.

La correlación es igualmente positiva, pero mayor, en el caso del Peso Total de la planta.

- La Altura al Nudo, está positivamente correlacionada con el Número de granos totales, el Número de granos llenos y el Peso Total; y negativamente correlacionado con el Índice de Cosecha.
- El Peso Total de la planta está fuertemente correlacionado con la altura al Nudo, el Número de granos totales por panícula y el Número de granos llenos.
- El Índice de Cosecha está correlacionado negativamente con la Altura al Nudo, el Número de Granos totales, el Número de granos llenos y el Peso Total. Solo está correlacionado positivamente con el Porcentaje de Llenado y el Peso de 100 semillas.

Según estos resultados, el Rendimiento en Grano aumenta en esta población con el Peso Total de la planta y sus caracteres asociados: mayor Altura del nudo, mayor Número de tallos y mayor Número de granos, tal y como indicaban algunos autores (Song et al, 1990; Yamauchi, 1994; Peng et al, 2000).

4.5.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

La selección directa utilizando el rendimiento como parámetro principal es muy difícil en las primeras generaciones de un programa de mejora.

El Análisis de Componentes Principales mide la importancia y la contribución de cada componente a la varianza total. Se puede utilizar para la medición independiente del impacto de un carácter particular a la varianza total, mientras que cada coeficiente del vector indica el grado de contribución de cada variable original a la componente a la que está asociado. Cuanto mayor sea este coeficiente, más efectiva será la discriminación entre las líneas de la población (Nachimutu VV et al, 2014).

En nuestro caso, se obtuvo la tabla con los pesos de cada variable en los correspondientes componentes principales. Las 3 primeras Componentes Principales explican el 82,74% de la varianza total para 9 caracteres evaluados de una población de 58 líneas. La elevada varianza relacionada con las variables comprendidas en estas tres componentes principales puede ofrecer una idea hacia su utilización en sucesivos programas de mejora.

Tabla 12. Tabla de Pesos de las variables evaluadas en los cuatro primeros Componentes Principales para 58 variedades de la población.

CARACTERES	Componente 1	Componente 2	Componente 3
ALTNUDO	0,446838	-0,0665813	0,0569649
NUMTALL	0,0111885	0,466577	-0,583468
NUMGRA	0,444269	-0,0300101	0,0714792
NUMGRL	0,40904	0,0589391	0,0429931
PORLLE	-0,285189	0,304475	-0,108769
PES100	-0,0786169	0,308932	0,788573
PESTOTAL	0,429124	0,255421	-0,0425595
INDCOS	-0,318254	0,415406	0,103699
PESGRA	0,250151	0,589535	0,0558608

La Primera Componente ya explica casi el 50% de la varianza total. Las variables positivamente correlacionadas son Altura al Nudo, Numero de Granos Totales por Panícula, Número de Granos Llenos y Peso Total. Esta componente comprende variables fenológicas y variables relacionadas con el rendimiento, por tanto, nos identifica aquellas plantas con un mayor tamaño. Resultados similares se obtuvieron por Guei RG, 2005; Kayode SA et al, 2008; Sanni et al, 2012; Nachimuthu VV et al, 2014.

La Segunda Componente explica el 21,45% de la varianza y está asociada al Peso de Grano por planta, que es la variable principal, y al Número de tallos por planta, incidiendo en la estrecha relación entre ambos caracteres. Le sigue el Índice de Cosecha. Esta componente está relacionada con variables de rendimiento, y nos puede servir para la identificación de las líneas con mayores valores de rendimiento.

Las dos primeras Componentes Principales suman casi la tercera parte de la variabilidad total estimada.

La Tercera Componente explica el 11,32% de la varianza y está asociada fuertemente al Peso de 100 semillas. Esta componente está relacionada con el tamaño de grano.

Gráfica de Pesos del Componente

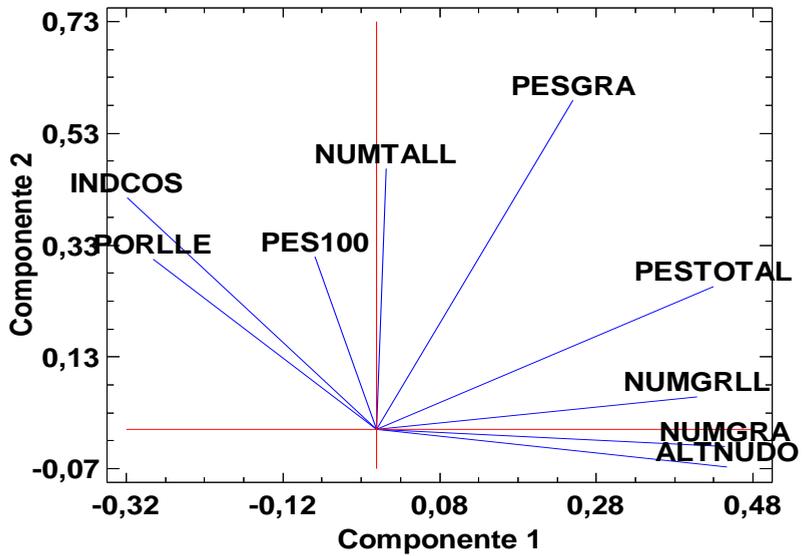


Figura 34. Gráfica de Pesos de cada variable en los Componentes 1 y 2 del Análisis de componentes realizado en la subpoblación.

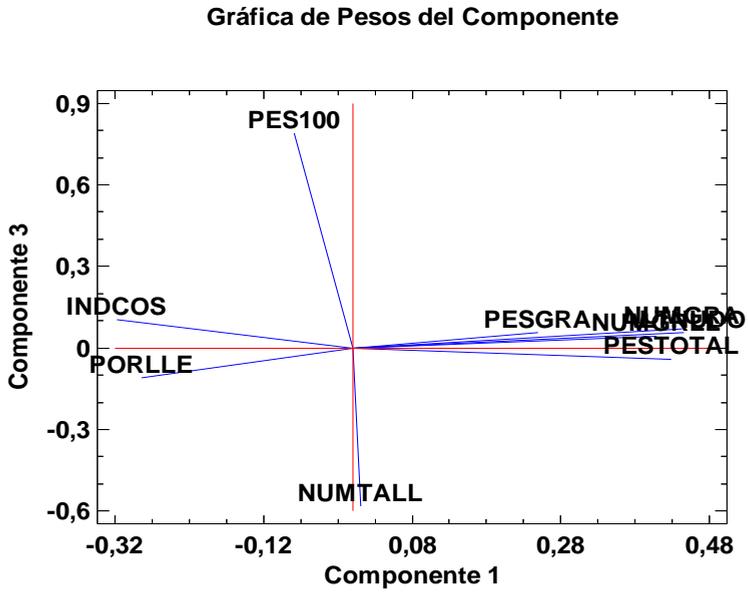


Figura 35. Gráfica de Pesos de cada variable en los Componentes 1 y 3 del Análisis de componentes realizado en la subpoblación.

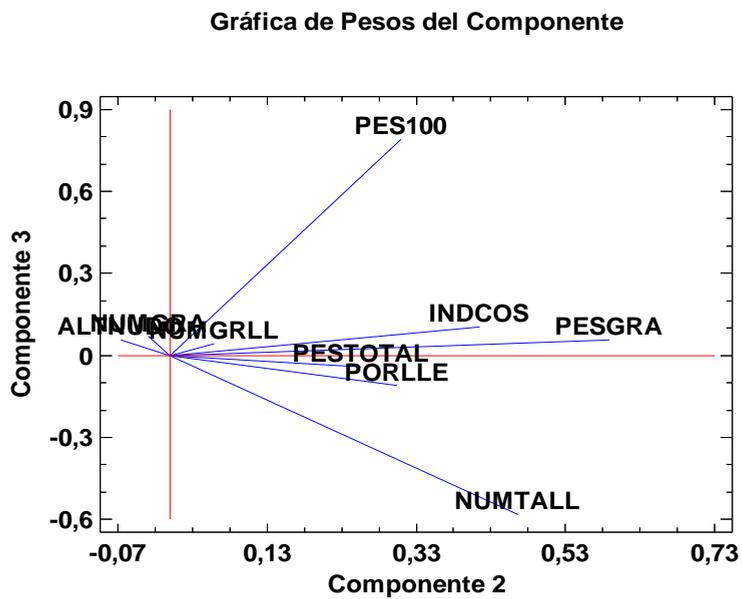


Figura 36. Gráfica de Pesos de cada variable en los Componentes 2 y 3 del Análisis de componentes realizado en la subpoblación.

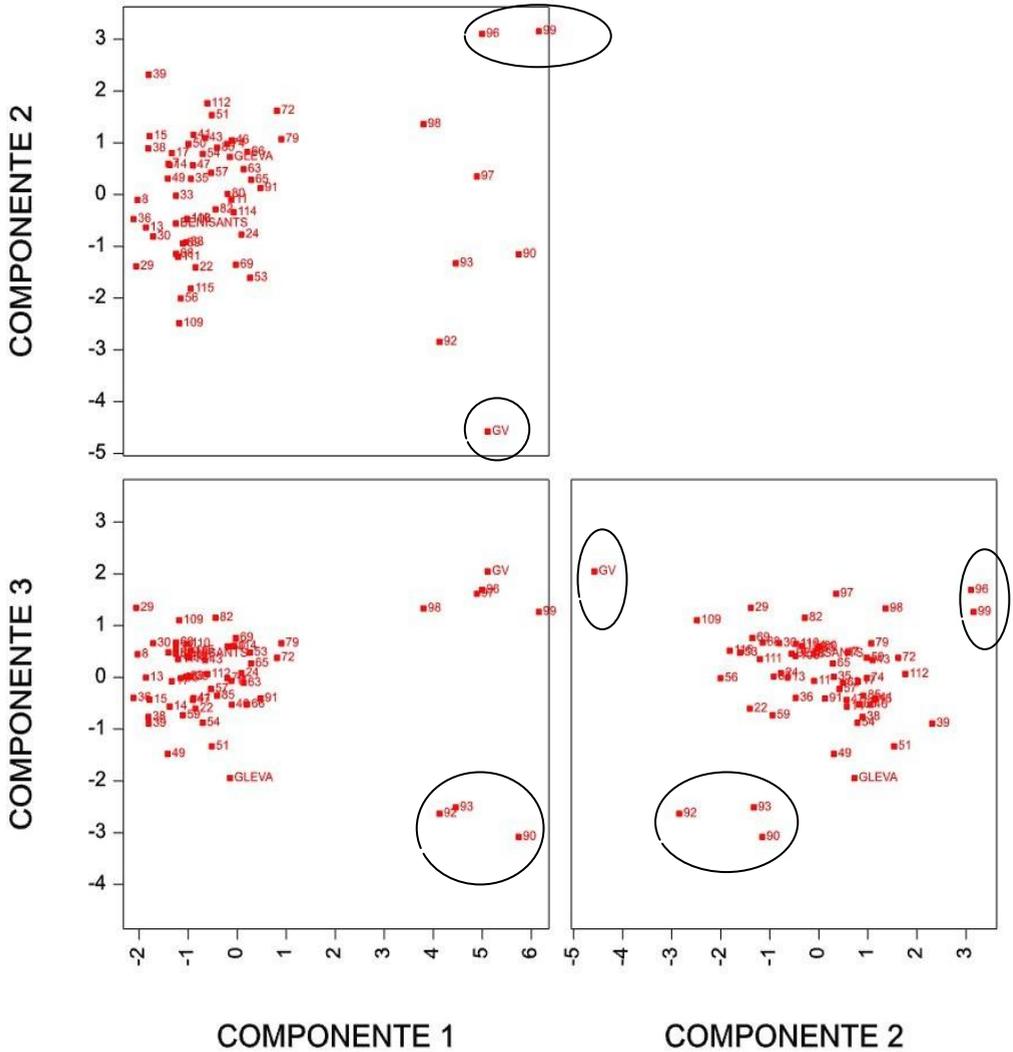


Figura 37. Diagrama de dispersión de las líneas utilizadas en el Análisis de Componentes Principales realizado en la subpoblación respecto a los tres Componentes Principales.

La comparación entre ambas gráficas en cada caso permite la clasificación de cada línea ensayada en función de sus características destacadas:

1. GRÁFICAS COMPONENTE 1 – COMPONENTE 2:

Permite la identificación a través de la Componente 1 de las líneas con el mayor Peso Total de la planta, asociado al conjunto de variables: Número de Granos Totales, Número de Granos Llenos y Altura al Nudo y, en menor medida, al Rendimiento en Grano. La Componente 2 está asociada fuertemente al Rendimiento en Grano. En este caso, se identifican las líneas 96 y 99 como las líneas con los mayores valores de cada característica, situándolas en el extremo derecho superior. Inversamente, la línea *GV* obtiene los menores valores en Rendimiento en Grano y se diferencia en el extremo derecho inferior.

2. GRÁFICAS COMPONENTE 1 – COMPONENTE 3:

Esta gráfica permite la identificación de un grupo de líneas (90, 92 y 93) que poseen el menor Peso de 100 Semillas, junto al elevado Número de tallos, características fuertemente asociadas inversamente a la Componente 3.

3. GRÁFICAS COMPONENTE 2 – COMPONENTE 3:

Esta gráfica diferencia a la vez los tres grupos de líneas indicadas en las comparativas anteriores. Las líneas 96 y 99 se diferencian por sus valores superiores en Peso de Grano (Componente 2) y Peso de 100 Semillas (Componente 3). Las líneas 90, 92 y 93 se diferencian por sus valores inferiores en Peso de Grano (Componente 2), inferiores en Peso de 100 Semillas (Componente 3). La variedad *GV* se diferencia por el menor valor de toda la población en Peso de

Grano (Componente 2), valores similares a las líneas 96 y 99 en Peso de 100 Semillas (Componente 2), y el menor valor en cuanto a Número de Tallos (Componente 3).

4.5.3. ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS

A partir de los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros morfológicos y de rendimiento, se realizó la clasificación de las 58 líneas en un dendograma.

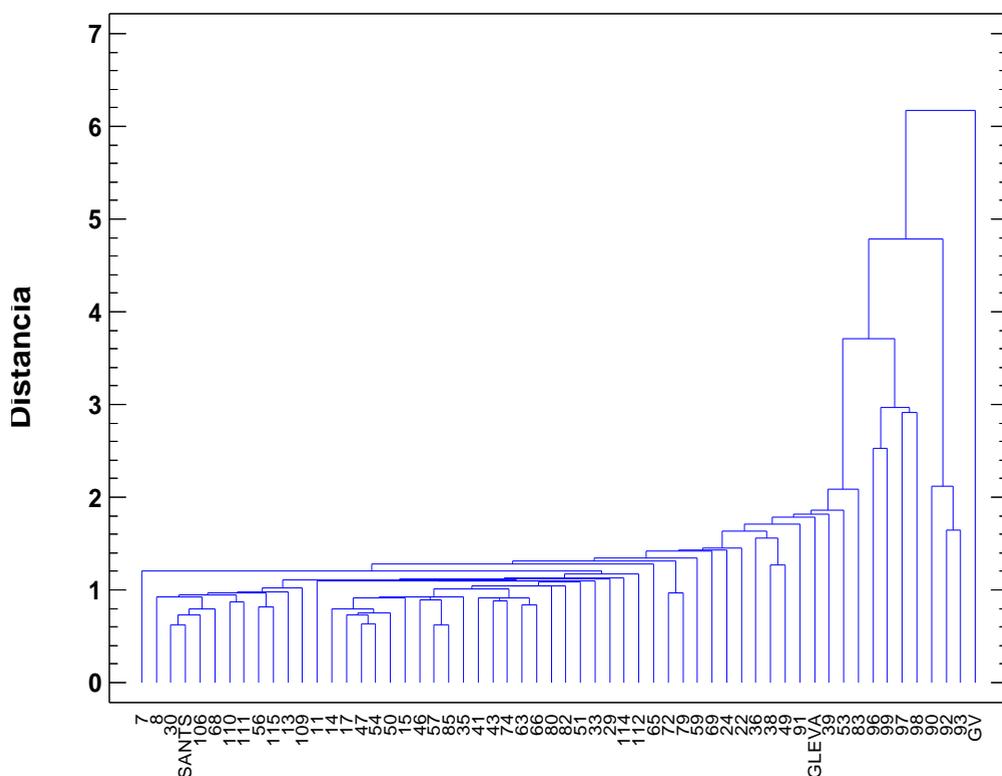


Figura 38. Análisis de conglomerados obtenido a partir de todos los caracteres morfológicos evaluados en campo durante los años 2009 y 2010.

En él se pudieron clasificar 4 grupos:

1. El primero está formado únicamente por el parental *GV*,
2. El segundo está formado por las líneas 90, 92 y 93,
3. El tercero está formado por las líneas 96, 97, 98 y 99,
4. El cuarto lo forman el resto de líneas junto al otro parental *BENISANTS*, y la variedad de referencia, *GLEVA*.

Estos grupos se pudieron diferenciar en algunos casos en las gráficas obtenidas en el Análisis de Componentes Principales, demostrado la relación existente entre ambos análisis, tal y como indican Ashan et al, 2014; Caldo et al, 1996; Shaibu A. A. and Maji A. T., 2012.

4.5.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE

Muchos caracteres en arroz están usualmente correlacionados con el rendimiento en grano. Esta situación aumenta la necesidad de identificar aquellas variables que tienen la mayor influencia en el rendimiento y que puedan usarse en la mejora genética. Por lo tanto, el análisis múltiple de regresión puede ser utilizado en este sentido (Ukaoma AA et al, 2013).

Janwan M et al (2013) llevó a cabo un análisis de regresión para determinar las características que contribuyen al rendimiento en grano, obteniendo un modelo que utiliza cinco de las once variables evaluadas con una R^2 que explica el 84,3% de las variaciones totales relativas al rendimiento.

Con los datos obtenidos de la subpoblación, se realizó un análisis de regresión múltiple con todas las variables evaluadas: Altura al Nudo, Número de Tallos, Número de Granos totales, Número de Granos llenos, Porcentaje de Granos llenos, Peso Total de la planta, Peso de 100 Semillas, Índice de Cosecha, con la intención de obtener un modelo que destaque la importancia de cada una en la variable Rendimiento en Grano.

De todas ellas, las variables Altura al Nudo y Número de Tallos se desestiman por no obtener un Valor-P estadísticamente significativo.

Tabla 13. Tabla de estimación de los Coeficientes de la ecuación de Regresión Múltiple para 58 variedades de la población respecto a la variable principal de Peso de Grano por planta.

<i>Parámetro</i>	<i>Estimación</i>	<i>Error Estándar</i>	<i>Valor-P</i>
CONSTANTE	-14,9693	59,4439	0,8022
NUMGRLL	0,916703	0,442724	0,0435
NUMGRA	-0,829354	0,400807	0,0436
PORLLE	-1,41359	0,65601	0,0359
PESTOTAL	0,611113	0,0141421	0,0000
PES100	4,00042	1,8105	0,0317
INDCOS	212,653	7,54434	0,0000

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre PESGRA y 8 variables independientes. Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0%.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{PESGRA} = -14,9693 + 0,916703 \cdot \text{NUMGRLL} - 0,829354 \cdot \text{NUMGRA} \\ - 1,41359 \cdot \text{PORLLE} + 0,611113 \cdot \text{PESTOTAL} + \\ 4,00042 \cdot \text{PES100} + 212,653 \cdot \text{INDCOS}$$

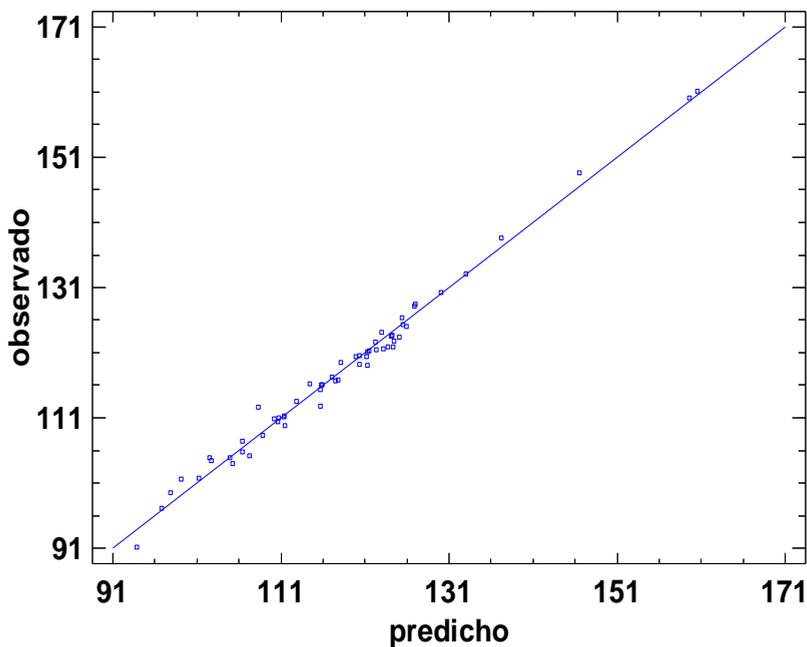


Figura 39. Expresión gráfica de la ecuación obtenida en el Análisis de regresión efectuado sobre el estudio de 8 variables. Comparativa sobre los valores observados.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo así ajustado explica 98,8634% de la variabilidad en PESGRA. El estadístico R-Cuadrada ajustada, que es más apropiada para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 98,7296%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1,47227.

4.6. COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN DISEÑO EN LATTICE SQUARE FRENTE A UN ENSAYO EN BLOQUES COMPLETOS AL AZAR

Un buen ensayo, tal y como describen Raza y Masood (2009) debe comprender una buena planificación, asegurar una recogida completa de datos, un análisis eficiente y una interpretación precisa de los resultados.

El diseño en bloques completos es menos eficaz conforme se incrementa el número de líneas debido a que el tamaño de los bloques se incrementa, y la homogeneidad de las parcelas elementales es más difícil de mantener.

La eficiencia superior del diseño en lattice se ha comparado en multitud de estudios frente al diseño en bloque completos (Atwood & Garber, 1942; Myers, 1942; Zuber, 1942; Jonson & Murphy, 1943; Wellhausen, 1943; Lin et al., 1993 Saad, 1994a, b).

Estudios realizados por Lin y al (1971) indicaron que la ausencia de competencia entre plantas es la llave para aumentar la heredabilidad y la desviación estándar.

Fasoula (1988) llegó a la conclusión que un Coeficiente de Variación bajo refleja una interacción entre genes favorable y un incremento en producción y estabilidad. Igualmente, según Fasoula, DA y Fasoula, VA (1997), la principal ventaja es la optimización de la heredabilidad de las plantas para caracteres cuantitativos.

Se estudiaron los valores obtenidos en rendimiento medio de grano por planta, por ser el principal parámetro de selección de líneas de mejora.

En este caso, las líneas utilizadas fueron:

- las tres líneas que obtuvieron los valores inferiores en Rendimiento por planta en el ensayo realizado en el objetivo 2.
- las tres líneas que obtuvieron los valores superiores en Rendimiento por planta en el ensayo realizado en el objetivo 2.
- las dos variedades parentales, y la variedad de referencia.

Se realizó el estudio estadístico con los resultados obtenidos en ambos ensayos, lattice square y bloques completos al azar, exponiendo a continuación el valor de la F, el error estándar de la diferencia entre líneas y el Coeficiente de Variación (CV) de cada uno de ellos.

Tabla 14. Valor F y su significación de los efectos fijos en dos ensayos realizados según un diseño en lattice square y un diseño en bloques completos al azar.

TERMINO	g.l.	LATTICE	BLOQUES
Línea	8	3,37*	19,48**
sed genotipo		14,17	4,06
CV (%)		9,8	14,1

g.l.: grados de libertad

ns: no significativo

sed genotipo: error estandar de la diferencia entre genotipos

* Nivel de significación $p < 0,05$

** Nivel de significación $p < 0,001$

Los resultados obtenidos indicaron un valor menor de la F en el ensayo en lattice respecto al de bloques, así como su nivel de significación, que pasó de ser del 0,001 al 0,05. Al mismo tiempo, el valor del error estándar de la

diferencia fue mayor en el ensayo en lattice respecto al de bloques. Esto indica que los resultados obtenidos en el ensayo en lattice no son tan diferentes significativamente como los obtenidos en el ensayo en bloques completos.

El mayor valor de las medias obtenidas en el ensayo en lattice se relaciona con el diseño del ensayo, ya que la distribución en campo en planta aislada permite la máxima expresión del potencial productivo.

Uno de los resultados obtenidos ha sido un menor Coeficiente de Variación (CV) en el ensayo en lattice respecto al valor obtenido en el diseño en bloques, tal y como obtuvieron Raza y Masood (2009), indicando una mayor precisión del ensayo.

Estos resultados coinciden con Kiriakou y Fasoulas (1995) al analizar una población cultivada en presencia y en ausencia de competencia entre plantas. En este caso, los investigadores obtuvieron una diferencia de un 33% entre las dos modalidades del diseño de ensayo.

Además, en el mismo estudio también se comparó la desviación estándar, obteniendo un valor superior en la distribución en plantas aisladas frente al cultivo en presencia de competencia, tal y como ocurre en nuestro estudio.

Los valores obtenidos en rendimiento medio de grano por cada variedad en cada uno de los ensayos se indican en la tabla 15:

Tabla 15. Rendimiento medio en grano por planta obtenido en los ensayos realizados en el año 2014 y diferencia entre ellos en porcentaje.

LÍNEA	ENSAYO LATTICE (en g)	ENSAYO BLOQUES (en g)	DIFERENCIA (%)
96	150,2	90,85	- 39,5
98	143,2	81,92	- 42,8
99	128,9	93,21	- 27,7
29	120,0	80,91	- 32,6
36	109,7	78,63	- 28,3
56	106,8	79,68	- 25,4
BENISANTS	93,4	69,56	- 25,5
GV	105,1	50,44	- 52,0
GLEVA	117,1	83,99	- 28,3

Las diferencias entre el rendimiento superior alcanzado por el ensayo en lattice respecto al ensayo en bloque oscilaron de media un 33,5 %, siendo el valor más bajo el 52% obtenido por la variedad *GV*; y el valor más alto, el de la línea 56, con un 25,4%. Básicamente, la mayoría de las líneas (6), tuvieron una

diferencia en rendimiento medio por planta entre el ensayo en lattice y el ensayo en bloque que osciló alrededor del 30%.

En la tabla 16 se muestran los valores medios obtenidos por las nueve líneas utilizadas en los dos ensayos realizados en el año 2014, lattice square y bloques completos al azar junto a los valores obtenidos por dichas líneas en el ensayo principal realizado durante los años 2009 y 2010. Los valores se ordenaron en sentido creciente.

Tabla 16. Comparación entre los valores medios obtenidos en los ensayos lattice square realizados en 2009 y 2010, los valores obtenidos en el ensayo lattice square y los valores obtenidos en el ensayo en bloques realizados en el año 2014.

ENSAYO LATTICE 2009 - 2010		ENSAYO LATTICE 2014		ENSAYO BLOQUES 2014	
LÍNEA	PESO (gr.)	LÍNEA	PESO (gr.)	LÍNEA	PESO (gr.)
GV	91,20	BENISANTS	93,4	GV	50,44
56	99,45	GV	105,1	BENISANTS	69,56
29	101,69	56	106,8	36	78,63
36	104,90	36	109,7	56	79,68
BENISANTS	108,24	GLEVA	117,1	29	80,91
GLEVA	120,42	29	120,0	98	81,92
98	148,60	99	128,9	GLEVA	83,99
99	160,10	98	143,2	96	90,85
96	161,19	96	150,2	99	93,21

Si nos atenemos a los resultados obtenidos en los ensayos del año 2014, la diferencia entre el valor menor y el mayor fue de un 62% en el caso del ensayo en lattice, y de un 54% en el caso del ensayo en bloques. Si se compara con los resultados del ensayo principal, la diferencia entre las líneas era del 57%.

Se puede observar la disposición casi coincidente del orden de las líneas en los dos ensayos. Así, las 4 posiciones con menor valor obtenido estuvieron ocupadas por las mismas 4 líneas. En cuanto a las líneas con mayor rendimiento obtenido en el ensayo principal, también coincidieron en las posiciones más elevadas en los dos ensayos realizados en el año 2014, aunque no en el mismo orden entre ellos.

Por otro lado, a nivel práctico, el ensayo según el diseño en lattice square balanceado es más sencillo de manejo, y más económico de realización, respecto al diseño en bloques completos al azar.

La realización de ensayos de campo en arroz en las condiciones de cultivo en Valencia obliga a la utilización de un sistema combinado: semillero – plantel – trasplante definitivo a campo, ya que es el único método que garantiza la uniformidad del marco de plantación entre plantas y filas. Todo el proceso se realiza de forma manual, con el consiguiente elevado coste de mano de obra.

El ensayo en bloques completos precisó la preparación de un plantel con 27 parcelas, una por cada parcela elemental. En campo se trasplantaron un total de 540 plantas, de las cuales se evaluaron 135 plantas.

Por el contrario, el plantel del ensayo en lattice square solo requirió una única bandeja de cultivo con alveolos independientes, trasplantando el mismo número de plantas que se evaluaron, 36.

Esto supone una disminución del 94 % en el número de plantas manejadas en campo, y del 74 % en el número de plantas seleccionadas y evaluadas.

5. CONCLUSIONES

1. El diseño experimental en lattice square y el marco de plantación en entorno aislado (0,5 x 0,5 m) permitió la máxima expresión de los caracteres morfológicos y la caracterización fenológica y productiva de la familia de líneas dobles haploides. La evaluación efectuada permitió conocer su comportamiento en campo y seleccionar los mejores genotipos.
2. El análisis DaRT permitió la clasificación genética de las líneas, confirmando la selección previa de las líneas hacia fenotipos similares al parental *BENISANTS*, excepto un pequeño número de líneas doble haploides con caracteres más parecidos al parental *GIGANTE VERCELLI*.
3. Las dos líneas más sobresalientes de la población han obtenido unos valores productivos superiores en un 32 % y un 43 % a los dos parentales *BENISANTS* y *GIGANTE VERCELLI*, respectivamente. Esto indica un fenómeno de herencia transgresiva sobre los dos parentales. El rendimiento en grano mostró correlaciones positivas moderadas y significativas con el número de granos totales por panícula y con el número de granos llenos por panículas, siendo esta correlación mayor con el peso total de las plantas. Asimismo, los valores de la heredabilidad obtenidos son muy elevados en algunos de los principales caracteres confirmando la tesis de la selección indirecta frente a la selección directa a rendimiento. En este estudio los valores mayores corresponden a Índice de Cosecha (IC), Días a Floración (DE), Número de Granos Totales por

panícula (NGR), y Número de Granos Llenos por panícula (NGRLL).

4. La utilización de un diseño en lattice square no balanceado y con marco de plantación en entorno aislado, con una disminución de repeticiones de hasta un 66 %, permite la selección de los mejores genotipos en cuanto a rendimiento en grano. Además, los valores de la heredabilidad observada permanecen estables en los caracteres cuya varianza total es menos influida por las condiciones ambientales.
5. Los resultados obtenidos en el ensayo realizado con el diseño en lattice square balanceado y en entorno aislado son comparables a los obtenidos en un ensayo realizado en bloques al azar con marco de plantación similar a las condiciones reales de cultivo en filas de plantas. Sin embargo, el ensayo en lattice utiliza un número de plantas muy inferior, 36 plantas frente a las 540 necesarias en el ensayo en bloques al azar, (-94%) con el consiguiente ahorro económico en el proceso de selección y mejora de arroz.
6. El análisis de conglomerados (cluster) realizado a partir de los datos obtenidos en los ensayos realizados en los años 2009 y 2010 fue similar al dendograma realizado con el análisis genético de la población. Esta circunstancia incide en la validación del método de diseño en lattice square y entorno aislado, ya que es capaz de obtener la diferenciación fenotípica de los genotipos a ensayar.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abe, T. (1991). Principal Component Analysis for Rice Characters Relating with Plant Statues and Yield. *Bul. Yamagata Univ., Agr. Sci.*, 11 (2): 235-247. Jan. 1991.

Aguilar Portero M, Castejon Munoz M, Lara Alvarez I (2005). Identificación de las razas de *Pyricularia oryzae* en la zona arroceras de las Marismas del Guadalquivir (2005). Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca.

Agrama H, Eizenga G, Yan W (2007). Association mapping of yield and its components in rice cultivars. *Molecular Breeding* 19: 341–356.

Akita, A., L. Blanco, and S.S. Virmani. (1986). Physiological analysis of heterosis in rice. *Jpn. J. Crop Sci.* 65:14–15.

Aluko G, Martinez C, Tohme J, Castano C,... (2004). QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* × *O. glaberrima*. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 630–639.

Andaya VC Y Tai TH (2006). Fine mapping of the qCTS12 locus, a major QTL for seedling cold tolerance in rice. *Theoretical and applied genetics* 113: 467-475.

Ando T, Yamamoto T, Shimizu T, Ma X. (2008). Genetic dissection and pyramiding of quantitative traits for panicle architecture by using chromosomal segment substitution lines in rice. *Theoretical and applied genetics* 116: 881–890.

Arumuganathan K, Earle ED (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter* 9: 208-219.

Asch F, Dingkuhn M, Wittstock C, Doerffling K (1999). Sodium and potassium uptake of rice panicles as affected by salinity and season in relation to yield and yield components. *Plant and soil* 207: 133-145

Ashikari M, Sakakibara H, Lin SY, Yamamoto T... (2005). Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309:741-45.

Ashura Luzi-Kihupi, (1998). Inter-relationship between yield and some selected agronomic characters in rice. *African Crop Science Journal*, Vol. 6. No. 3, pp. 323-328

Asif B. Shikari, A.B., G.A. Parray, A.G. Rather and F. A. Sheikh. (2009). Principal Component Analysis for Evaluation of Rice (*Oryza sativa* L.) Germplasm. *Journal of Rice Research*, Vol.2, No.1

Atwood, S.S. & Garber, R.J. The evaluation of individual plants of white clover for yielding ability in association with bluegrass. *Journal of the American Society of Agronomy*, Madison, 34(1):1-6, (1942).

Ballini E, Morel JB, Droc G, Price A, ... (2008). A Genome-Wide Meta-Analysis of Rice Blast Resistance Genes and Quantitative Trait Loci Provides New Insights into Partial and Complete Resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 859-868.

Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S ... (2003). Identification and fine mapping of Pi33, the rice resistance gene corresponding to the Magnaporthe grisea avirulence gene ACE1. *Theoretical and applied genetics* 107: 1139–1147.

Borbora TK, Hazarika GN and Medhi AK (2005). Correlation and path analysis for plant and panicle characters in rice (*Oryza sativa*). *Agr. Biotech., Jorhat.*, 30(20): 215-220.

Borràs, G., I. Romagosa, e. Van Eeuwijk, G.A. Slafer (2009): Genetic variability in duration of preheading phases and relationship with leaf appearance and tillering dynamics in a barley population. *Field Crop Research* 113:2: 95-104.

Bouharmont J (1989). Biotechnology applications for rice improvement. *Noticiario de la Comision Internacional del Arroz (FAO)*, 38: 1-14.

Brondani C, Rangel P, Brondani R, Ferreira M (2002). QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 1192-1203.

Cattivelli L, Rizza F, Badeck FW, Mazzucotelli E, ... (2008). Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops* 105: 1-14

Chau NM, Bhargava SC (1993) Physiological basis of higher productivity in rice. *Indian J Plant Physiol* 4:215–219.

Chen X, Li M, Ma B, Tromp J (2002). DNACompress: fast and effective DNA sequence compression. *Bioinformatics Applications Note* 18: 1696–1698.

Comstock, R.E. and R.H. Moll, (1963). Genotype x Environment Interactions. *Symposium on Statistical Genetics and Plant Breeding*. National Academy Science National Research Council, Washington, D.C., pp: 164-196.

Cuevas Pérez, F., E. Guimarães, L. Berrio and D. González. (1992). Genetic base of irrigated rice in Latin America and the Caribbean, 1971 to 1989. *Crop Science* 23:944-949.

Danos, D.A., (1988). Comparative efficiency of two methods of pedigree selection in rice breeding. Ph.D. thesis. Dept. Genet. Plant Breed. Aristotelian Univ., Thessaloniki, Greece.

De Pauw, R.M. and L.H.Shebeski. (1973). An evaluation of early generation yield testing procedure in *Triticum aestivum* L. *Can. J. Plant Sci.* 53 : 465-470.

Deveaux P, Pickering R (2005). Haploids in the improvement of Poaceae. En: *Haploids in Crop Improvement II* (Palmer CE, Keller WA, Kasha KJ, eds.). Springer-Verlag, Berlin, pp 215-233.

Diz, D. A., and S. C. Schank. (1995). Heritabilities, genetic parameters, and response to selection in pearl millet x elephantgrass hexaploid hybrids. *Crop Sci.* 35:95-101.

Donald, C.M. & J. Hamblin, (1976). The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Adv Agron* 28: 361–405.

Edwards D, Batley J (2010) Plant genome sequencing: applications for crop improvement. *Plant Biotechnology Journal* 8: 2-9.

Evans, L.T.; Visperas, R.M.; Vergara, B.S. (1984). Morphological and physiological changes among rice varieties used in the Philippines over the last seventy years. *Field Crops Research* 8: 105-125.

Evans, L.T., (1993). *Crop Evolution*. In: *Adaptation and Yield*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 498 p

Falconer D.S., (1981), *Introduction to Quantitative Genetics*, 2nd edition, Longman Group Limited, Longman Burnt Mills, Harlow, Essesc, England.

Fageria NK (2007). Yield Physiology of Rice. *Journal of Plant Nutrition* 30: 843–879

Fageria, N. K., and V. C. Baligar. (1997a). Upland rice evaluation for phosphorus use efficiency. *Journal of Plant Nutrition* 20: 499–509.

Fan C, Xing Y, Mao H, Lu T, (2006). GS3, a major QTL for grain length and weigh and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1164-1171.

Fasoulas, A.C., (1988). The honeycomb methodology of plant breeding. Published by the author, Thessaloniki, Greece, 197 pp.

Fasoula D.A., V.A. Fasoula, (1997). Competitive ability and plant breeding. *Plant Breed. Rev.* 14: 89-138.

Fasoulas, A.C. and V.A. Fasoula, (1995). Honeycomb selection designs. *Plant Breed. Rev.*, 13: 87-139.

Fasoula-Ioannides, D.A. (1995). A simple method to quantify and exploit favorable gene-to-gene interactions. 22nd Stadler Genetics Symp.

Fisher RA. (1947). Development of the theory of experimental design. *Proceedings of the International Statistical Conferences.* ; 3:434–39.

Fujino K, Sekiguchi H, Sato T, Kiuchi H, ... (2004). Mapping of quantitative trait loci controlling lowtemperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 108: 794-799.

Futsuhara, Y. and H. Yamaguchi, (1963). A radiation-induced mutant of less tillering in rice. *Jpn. J. Breed.* 13: 183-185.

Gibori, A., J. Hillel, A. Cahaner and A. Ashri. (1978). A 9x9 diallel analysis in peanuts (*Arachis hypogaea* L.): flowering time, tops' weight, pod yield per plant and pod weight. *Theor, Appl. Genet.* 53: 169-179.

Goff S. A., Ricke D., Lan T. H., Presting G., Wang R., Dunn M. et al. (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* 296, 92–100.

Gomez, K. A. rt Gomez, A. A. (1984). *Statistical Procedures for Agricultural Research*. John Wiley and Sons. New York. 680 p.

Gravois, K.A. and K.S. Helms. (1992). Path analysis of rice yield and yield components as affected by seeding rate. *Agronomy Journal* 84: 1-4.

Gravois, K.A. and R.W. McNew. (1993). Combining ability and heterosis in U.S. southern long-grain rice. *Crop Sci.* 33:83-86

Guei RG, Sanni KA, Fawole AFJ. (2005). Genetic diversity of rice (*Oryza sativa* (L.)). *Agron Africaine*; 5:17–28.

Guo LB, Xing YZ, Mei HW, Xu CG... (2005). Dissection of component QTL expression in yield formation in rice. *Plant Breeding* 124: 127–132.

Guimaraes EP (2009). Rice breeding. En: *Handbook of plant breeding*. Vol 3: Cereals (Carena MJ, ed.). Springer, Berlin/Heidelberg, Alemania.

Haefele SM, Siopongco J, Boling A, Bouman B, ... (2009). Transpiration efficiency of rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research* 111: 1-10.

Hanson, P.R.,G. Jenkins and B. Westcott. (1978). Early generation selection in a Cross of Spring Barley *Z. Pflanzenzuchtg* 83: 64-80.

Hairmansis A, Kustianto B, Supartopo and Suwarno (2010). Correlation analysis of agronomic characters and grain yield of rice for tidal swamp areas. *Indonessian J. Agr. Sci.*, 11(1): 11-15.

Hittalmani S, Huang N, Courtois B, Venuprasad R, ... (2003). Identification of QTL for growth and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 679–690.

Hittalmani S, Shashidar HE, Bagali PG, Huang N, ... (2002). Molecular mapping of quantitative trait loci for plant growth, yield and yield related traits across three diverse locations in a double haploid rice population. *Euphytica* 125: 207-214.

Huang N, Angeles ER, Domingo J, Magpantay G, ... (1997). Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker assisted selection using RFLP and PCR. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 313-320.

Huang X, Qian Q, Liu Z, Sun H, (2009). Natural variation at the DEP1 locus enhances grain yield in rice. *Nature Genetics* 41: 494 – 497.

Iftekharruddaula K.M., Akter A., Bashar K., Islam M.R. (2002). Genetic parameters and cluster analysis of panicle traits in irrigated rice. *Bangladesh J Pl Breed Genet* 15: 49-55.

International Rice Research Institute (2013). *Rice Almanac*, 4th edition. Philippines. 298 pages.

Ikeda K, Ito M, Nagasawa N, Kyojuka J, (2007). Rice aberrant panicle organization 1, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *The Plant Journal* 51: 1030–1040.

Ikeda K, Yasuno N, Oikawa T, Iida S, (2009). Expression Level of aberrant panicle organization 1 Determines Rice Inflorescence Form through Control of Cell Proliferation in the Meristem. *Plant Physiology* 150: 736–747.

Ingvarsson PK, Street NR (2010). Association genetics of complex traits in plants. *New Phytologist* 189: 909-922.

Ishii R. (1995). Cultivar differences. In: Matuso T, Kumazawa K, Ishii R, Ishihara K, Hirata H, eds. *Science of the rice plant 2. Physiology*. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 566–572.

Ishimaru K, Yano M, Aoki N, Ono K, ... (2001). Toward the mapping of physiological and agronomic characters on a rice function map: QTL analysis and comparison between QTLs and expressed sequence tags. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 793-800.

Ishizuka Y., Shimazaki Y., Tanaka A., Satake T. & Nakayama T. (1973). *Rice Growing in a Cool Environment*. ASPAC Food and Fertilizer Technology Centre, Taiwan.

Janwan, M., T. Sreewongchai and P. Sripichitt, (2013). Rice breeding for high yield by advanced single seed descent method of selection. *J. Plant Sci.*, 8: 24-30.

Jena KK y Mackill DJ (2008). Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Science* 48: 1266-1276.

Jennings, P.R.; Coffman, W.R.; Kauffman, H.E. (1981). *Mejoramiento de arroz*. Cali: CIAT,. 233p

Jiang L, Liu S, Hou M, Tang J, ... (2006). Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research* 98: 68-75.

Johnson, I.J. & Murphy, H.C. (1943). Lattice and lattice square designs with oat uniformity data and in variety trials. *Journal of the American Society of Agronomy*, Washington, **35**(4):291-305.

Jones, D.B., and G.H. Snyder. (1987). Seeding rate and row spacing effects on yield and yield components of drill-seeded rice. *Agron. J.* 79:623-626.

Junjian N, Peter Colowit M, Mackill DJ (2002). Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science* 42: 601-607.

Juliano B (1992). Consumer demand for rice grain quality: grain quality characteristics of export rice in selected international markets. Ottawa, Canada: International Development Research Center; Manila, Philippines : IRRI.

Kayode SA, Fawole I, Guei RG, Ojo DK, Eklou SA, Daniel TD. (2008). Geographical patterns of phenotypic diversity in *Oryza sativa* landraces of Côte d'Ivoire. *Euphytica.*; 160:389–400.

Kiani, G. (2013). Heritability and Diversity Analysis of Quantitative Traits in Rice. *Agriculturae Conspectus Scientificus* . Vol. 78 (2013) No. 2 (113-117).

Kyriakou, D.T.; Fasoulas, A.C. (1985). Effects of competition and selection pressure on yield response in winter rye (*Secale cereale* L.). *Euphytica*, v.34, p.883-895.

Komatsu M, Maekawa M, Shimamoto K, Kyojuka J (2001). The LAX1 and FRIZZY PANICLE 2 Genes determine the inflorescence architecture of rice by controlling rachis-branch and spikelet development. *Developmental Biology* 231: 364–373.

Komatsu K, Maekawa M, Ujiie S, Satake Y, ... (2003). LAX and SPA: Major regulators of shoot branching in rice. *Proceedings of the*

National Academy of Science of the United States of America 100: 11765–11770.

Kondo. S. and Y. Futsuhara (1980). Genetic studies on the panicle formation in rice. 1. Analysis of component characters of panicle density. Japan. J. Breed. 30 : 335-343

Kropff MJ, Kassman KG, Peng S, Matthews RB, (1994). Quantitative understanding of yield potential. En: Cassman, K.G. ed., Breaking the yield barrier. International Rice Research Institute, Manila, Filipinas.

Koseki M, Kitazawa N, Yonebayashi S, Maehara Y, ... (2010). Identification and fine mapping of a major quantitative trait locus originating from wild rice, controlling cold tolerance at the seedling stage. Molecular Genetics and Genomics 285: 45-54.

Khush GS (1995b) Breaking the yield frontier of rice. GeoJournal 35:329-332.

Kyriakou, D.T.; Fasoulas, A.C. (1985). Effects of competition and selection pressure on yield response in winter rye (*Secale cereale L.*). Euphytica, v.34, p.883-895.

Lam H-M, Xu X, Liu X, Chen W, ... (2010). Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies pattern of genetic diversity and selection. Nature Genetics 42:1053-1059

Lander ES, Bostein D (1989). Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121:185-45.

Langella O. (2000). POPULATIONS 1·2: population genetic software, individuals or population distance, phylogenetic trees. .

LeClerg, E.L. (1966). Significance of experimental design in plant breeding. p. 243–313. In: K.J. Frey (cd.). Plant breeding. Iowa State Univ. Press, Ames.

Lentini, Z., Martínez, C. y Roca W. (1997). Cultivo de anteras de arroz en el desarrollo de germoplasma. Publicación CIAT No 293, ISBN 958-9439-92-6, Agosto 1997. Fundación Polar, CIAT y Fundación Rockedeller, p 50.

Li X, Qian Q, Fu Z, Wang Y, ... (2003). Control of tillering in rice. *Nature* 422: 618-621.

Li JM, Michael T, Mccouch SR (2004). Fine mapping of a grain weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome 3. *Genetics* 168: 2187-95.

Lin, C.S.; Binns, M.R.; Voldeng, H.D. & Guillemetter, R. (1993). Performance of randomized block designs in field experiments. *Agronomy Journal*, Madison, 85 (1):168-171.

Lin, H., C. C. Chen, and C.Y. Lin. (1971). Studies on the effect of selection for yield of pod at different planting densities in F₄bulk populations of peanut. *J. Agr. Assoc. China* 47:27-35.

Liu GF, Yang J, Xu HM, Hayat Y, ... (2008). Genetic analysis of grain yield conditioned on its component traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 59: 189–195.

Liu T, Li L, Zhang Y, Xu C, ... (2011). Comparison of quantitative trait loci for rice yield, panicle length and spikelet density across three connected populations. *Journal of Genetics* 90: 377–382.

Lubis I, Tatsuhiko Shiraiwa, Masao Ohnishi, Takeshi Horie and Naoto Inoue. (2003). Contribution of Sink and Source Sizes to Yield Variation among Rice Cultivars. *Plant Prod. Sci.* 6 (2): 119-125.

Luo Y, Gerten D, Le Maire G, Parton W, ... (2007). Modeled interactive effects of precipitation, temperature, and [CO₂] on ecosystem carbon and water dynamics in different climatic zones. *Global Change Biology* 14: 1986–1999.

Lungu, D.M., P.J. Kaltsitkes & E.N. Larter, (1987). Honeycomb selection for yield in early generations of spring wheat. *Euphytica* 36: 831-839.

Mackill, D.J., Zhang, Z., Redona, E., and Colowit, P.M. (1996). Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome*, 39: 969–977.

MadhaviLatha L, Sekhar MR, Suneetha Y and Srinivas T (2005). Genetic variability, correlation and path analysis for yield and quality traits in rice (*Oryza sativa*). *Res. Crops.*, 6(3): 527-534.

Magrama (2013). Producciones agrícolas.

Mariotti, J. (1986). Fundamentos de Genética Biométrica. Aplicaciones al Mejoramiento Genético Vegetal. Secretaria general de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington D.C. 149 p.

Matsuo T, Futsuhara Y, Kikuchi F, Yamaguchi H (1997). Biotechnology and genetic resources. En: Science of the rice plant. Volume 3: Genetics.

Mccouch S, Teytelman L, Xu Y, Lobos K, ... (2002). Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research 9: 199–207.

Mckenzie, R.I.H. and J.W. Lambert. (1961). A comparison of F3 lines and their related F6 lines in two barley crosses. Crop Sci. 1 : 246-249

Mei HW, Li ZK, Shu QY, Guo LB, ... (2005). Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two backcross populations. Theoretical and Applied Genetics 110: 649–659.

Miller, B.C., J.E. Hill, and S.R. Roberts. (1991). Plant population effects on growth and yield in water-seeded rice. Agron. J. 83:291-297.

Mitchell, J.W., R.H. Baker & D.R. Knott, (1982). Evaluation of honeycomb selection for single plant yield in durum wheat. Crop Sci. 22:840-843.

Misawa S, Mori N, Takumi S, Yoshida S, ... (2000). Mapping of QTLs for low temperature response in seedlings of rice (*Oryza sativa* L.). Cereal Research Communications 28: 33-40.

Miura K, Lin SY, Yano M, Nagamine T (2001). Mapping Quantitative Trait Loci Controlling Low Temperature Germinability in Rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science 51: 293-299.

Morishima, H. and H. 1. Oka (1981). Phylogenetic differentiation of cultivated rice, XXII. Numerical evaluation of the indica-japonica differentiation. Japan.1. Breed. 31 : 402-413

Murata, y., and s. Matsushima. (1975). Rice. Pages 73-99 in L.T. Evans, ed. Crop physiology. Cambridge Universkty Press. London.

Myers, W.M. (1942). The evaluation of individual plants of pasture grasses in association with white clover. *Journal of the American Society of Agronomy, Madison*, **34**(1):7-15,.

Nachimuthu, V.V., S. Robin, D. Sudhakar, M. Raveendran, S. Rajeswari and S. Manonmani. (2014). Evaluation of Rice Genetic Diversity and Variability in a Population Panel by Principal Component Analysis. *Indian Journal of Science and Technology, Vol 7*(10), 1555–1562,.

Nagai, I. (1962). *Japonica rice its breeding and culture*. Yokendo LTD Tokyo pp. 843.

Nagata K, Fukuta Y, Shimizu H, Yagi T, ... (2002). Quantitative Trait Loci for Sink Size and Ripening Traits in Rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science* 52: 259-273.

Nakagawa M, Shimamoto K, Kyojuka J (2002). Overexpression of RCN1 and RCN2, rice TERMINAL FLOWER 1/CENTRORADIALIS homologs, confers delay of phase transition and altered panicle morphology in rice. *The Plant Journal* 29: 743–750.

Negrao S, Oliveira MM, Jena KK, Mackill D (2008). Integration of genomic tools to assist breeding in the japonica subspecies of rice. *Molecular Breeding* 22:159–168.

Nei M., Maruyama T., Wu C. I., (1983). Models of evolution of reproductive isolation. *Genetics* 103: 557–579

Nienhuis, J.; Singh, S.P. (1988). Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris*L.) of Middle-American origin. I. General combining ability. *Plant Breeding* 101: 143-154.

Ntanos, D.A.; Roupakias, D.G. (2001). Comparative efficiency of two breeding methods for yield and quality in rice. *Crop Science*, v.41, p.345-350.

Ohsumi A, Takai T, Ida M, Yamamoto T, ... (2011). Evaluation of yield performance in rice near-isogenic lines with increased spikelet number. *Field Crops Research* 120: 68–75.

Ottis B, Smith K, Scott R, and Talbert R (2005). Rice (*Oryza sativa* L.) yield and quality as affected by cultivar and red rice (*Oryza sativa* L.) density. *Weed Science* **53** (in press).

Patiño, H. & S. Singh, (1989). Visual selection for seed yield in the F2 and F3 generations of nine common bean crosses. *Annu Rept Bean Improv Coop* 32: 79–89.

Peng S, Laza RC, Visperas RM, Sanico AL, (2000). Grain yield of rice cultivars and lines developed in the Philippines since 1966. *Crop Science* 40: 307-314.

Prasad P, Boote K, Allen L, Sheehy J, ... (2005). Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. *Field Crops Research* 95: 398–411.

Qamar Z, Cheema AA, Ashraf M, Rashid M and Tahir GR (2005). Association analysis of some yield influencing traits in aromatic and non aromatic rice. *Pak. J. Bot.*, 37(3): 613-627.

Quarrie SA, Steed A, Calestani C, Semikhodskii A, ... (2005). A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring X SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 865-880.

R.A.Caldo, L.S. Sebastian and E. Hemandez. (1996). Multivariate Analysis of Phenotypic Diversity of Philippine Improved Rice Varieties. Philipp. J. Crop Sci. 21 (3) 76-85

Ramakrishnan, S.H., C.R. Anandakumar, S.Saravanan and N. Malini (2006). Association Analysis of Some Yield Traits in Rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Applied Sciences Research, 2(7): 402-404, 2006.

Rashid K., Kahliq I., Farooq O. and Ahsan M. Z. (2014). Correlation and Cluster Analysis of Some Yield and Yield Related Traits in Rice (*Oryza Sativa*). J. Recent. Adv. Agr., 2014, 2(6): 271-276.

Raza, I. and M. A. Masood, (2009). A Non Parametric Test for the Non Normal Distribution of the Weights of Females Rats. Pakistan Journal of Agricultural Research, PARC. 22(3-4): 140-143.

Rebetzke, G. J., A. G. Condon, R A. Richards, and G. D. Farquhar. (2002). Selection for reduced carbon isotope discrimination increases aerial biomass and grain yield of rainfed bread wheat. Crop Sci. 42:739-745.

Redoña ED Y MACKILL DJ (1998). Quantitative trait locus analysis for rice panicle and grain characteristics. Theoretical and Applied Genetics 96: 957-963.

Reinke R (2006). Evaluating diversity array technology (DArT) for the NSW Rice Breeding Program, final report to RIRDC.

Roel C. Rabara, Marilyn C. Ferrer, Celia L. Diaz, Ma. Cristina V. Newingham and Gabriel O. Romero, (2014). Phenotypic Diversity of Farmers' Traditional Rice Varieties in the Philippines. *Agronomy* 2014, 4, 217-241; doi:10.3390/agronomy4020217.

Roupakias, D., A. Zesopoulou, S. Kazolea, G. Dalkalitses, A. Mavromatis and T. Lazaridou, (1997). Effectiveness of early generation

selection under two plant densities in faba bean (*Vicia faba* L.). *Euphytica*, 93: 63-70.

Saad, A.M.M. (1994a). Relative efficiency of incomplete block designs from optimum plot size and basic units for evaluating yield trials in wheat. *Annals of Agricultural Science*, Moshtohor, **32**(2):743-751.

Saad, A.M.M. (1994b). The relative efficiency of different designs from optimum plot size and plots for evaluating soybean yield. *Annals of Agricultural Science*, Moshtohor, **32**(4): 1781-1790.

Sabesan T, Suresh R and Saravanan K (2009). Genetic variability and correlation for yield and grain quality characters of rice grown in coastal saline low land of Tamilnadu. *Elect. J. Plant Breed.*, 1: 56-59.

Saitoh, K., Kasiwagi, S., Kinoshita, T. and Ishihara, K. (1991). Characteristics of dry matter production process in high yielding rice varieties. IV. Dry matter accumulation in the panicle. *Jpn. J. Crop. Sci.* 60: 255-263.

Saitou, N., and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4 406–425.

Sakai, K. (1951). Studies on individual selection and selective efficiency in plant breeding *Jap.J.Breed.* 1(1), 1-9.

Sanni KA, Fawole I, Ogunbayo A, Tia D, Somado, EA Futakuchi, Guei RG. (2012). Multivariate analysis of diversity of landrace rice germplasm. *Crop Science*, 52:494–504.

Sasahara, T., H. Ikarashi and M. Kambayashi (1986). Genetic variations in embryo and endosperm weights, seedling growth parameters and alpha-amylase activity of the germinated grains in rice (*Oryza sativa* L.). *Japan. J. Breed.* 36 : 248-261

Septiningsih E, Prasetyono J, Lubis E, Tai T, ... (2003). Identification of quantitative trait loci for yield and yield components in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theoretical and Applied Genetics* 107:1419–1432.

Shaibu A. A. and Maji A. T. (2012). Application of principal component analysis for rice germplasm characterization and evaluation. *Journal of Plant Breeding and Crop Science* Vol. 4(6), pp. 87-93, 30 March, 2012.

Shimizu-sato S, Mori H (2001). Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiol* 127:1405–1413.

Sidwell, R. J., E. L. Smith, and R. W. McNew, (1976): Inheritance and interrelationships of grain yield and selected yield related traits in a lard red winter wheat cross. *Crop Sci.* 16, 650—654.

Silva TD, Ratnayake WJ (2010). Anther culture potential of indica rice varieties, Kurulu Thuda and BG 250. *Tropical Agricultural Research & Extension* 12: 54-56.

Simmonds, N.W. (1979). *Principles of Crop Improvement*. London, UK: Longman Group Ltd.

Sinha P.K., Chauhan U.S., Prasad K., Chauhan J.S. (1991). Genetic divergence in indigenous upland rice varieties. *Indian J Genet. Plant Breed* 51: 47-50.

Singh A.K., Singh B.B., Singh S.M. (1996). Genetic divergence in scented and fine genotypes of rice (*Oryza sativa*). *Ann Agric Res* 17: 163-166.

Slafer, G. A., Calderini, D. F., and Miralles, D. J. (1996). Generation of yield components and compensation in wheat: Opportunities for further increasing yield potential. In: Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the barriers. CIMMYT Interna.

Sneep, J. (1977). Selecting for yield in early generation of self-fertilizing crops. *Euphytica* 26 : 27-30.

Song XF, Agata W, Kawamitsu Y (1990). Studies on dry matter and grain production of F1 hybrid rice in China. I. Characteristic of dry matter production. *Japanese Journal of Crop Science* 59: 19-28.

Song X, Huang W, Shi M, Zhu M, ... (2007). A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nature Genetics* 39: 5.

Soni, S.V., K. Yadav, N. Pratap, V.P. Bhadana and T.Ram. (2013). Selection criteria, yield relationship with component traits and grouping of tropical japonica, indica lines and derived hybrids of rice (*Oryza sativa* L.). *SAARC J. Agri.*, 11(2): 17-32 (2013).

Surek H, Beser N (2003). Correlation and path coefficient analysis for some yield related traits in rice (*Oryza sativa*) under thrace conditions. *Turk. J. Agr. For.*, 27: 77-83.

Takamure, I. and T. Kinoshita, (1985). Inheritance and expression of reduced culm number character in rice. *Jpn. J. Breed.* 35: 17-24.

Tanksley SD, Mccouch SR (1997). Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277: 1063-1066.

Takeda, T.M.; Oka, M.; Agata, W. (1983). Studies on the dry matter and grain production of rice cultivars in the warm area of Japan: I.

Comparison of the dry matter production between old and new types of rice cultivars. *Japanese Journal of Crop Science* 52: 299-306.

Tamura, W., Kojima, S., Toyokawa, A., Watanabe, H., Tabuchi, M., Hayakawa, T. and Yamaya, T. (2011) Disruption of a novel NADH-glutamate synthase2 gene caused marked reduction in spikelet number of rice. *Front. Plant Sci.* 2, 57.

Tanaka A., Kawano K., Yamaguchi J. (1966). Photosynthesis, respiration, and plant type of the tropical rice plant. *Int. Rice Res. Inst., Tech. Bull.*, 7.

Thomson MJ, Tai TH, Mcclung AM, Lai XH, ... (2003). Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 479-493.

Tian F, Li D, Fu Q, Zhu Z, ... (2006). Construction of introgression lines carrying wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) segments in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) background and characterization of introgressed segments associated with yield-related traits. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 570-580.

Tinarelli, A. (1989). *El arroz*. Versión española de R.M. Carreres O. 575 p. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

Ukaoma A. Augustina, Okocha P. Iwunor, Okechukwu R. Ijeoma. (2013). Heritability and character correlation among some rice genotypes for yield and yield components. *J. Plant Breed. Genet.* 01 (02). 73-84.

Virmani SS (2003). Advances in hybrid rice research and development in the tropics. In: Virmani SS, Mao CX, Hardy B, editors. *Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental*

protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, Hanoi, Vietnam. Los Banos (Philippines). IRRI: 7-20.

Wan X, Weng J, Zhai H, Wang J, ... (2008). Quantitative trait loci (QTL) analysis for rice grain width and fine mapping of an identified QTL allele gw-5 in a recombination hotspot region on chromosome 5. *Genetics* 179: 2239-2252.

Wellhausen, E.J. (1943). The accuracy of incomplete block designs in varietal trials in West Virginia. *Journal of the American Society of Agronomy, Washington*, **35**(1):66-76.

Wells, B. R., and W. Faw. (1978). Short-statured rice response to seeding and N rates. *Agron. J.* 70: 477-480.

Weng J, Takeda T, Agata W, Hakoyama S. (1982). Studies on dry matter and grain production of rice plants. I. Influence of the reserved carbohydrate until heading stage and the assimilation products during the ripening period on grain production. *Japanese Journal of Crop Science* 51, 500–509.

Wu P, Liao CY, Hu B, Yi KK, ... (2000). QTLs and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1295-1303.

Xiao J, Li J, Yuan L, McCouch SR, ... (1996). Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 637-643.

Xie X, Jin F, Song MH, Suh JP, ... (2008). Fine mapping of a yield-enhancing QTL cluster associated with transgressive variation in an *Oryza sativa* × *O. rufipogon* cross. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 613-622.

Xing Y, Tan YF, Hua JP, Sun XL... (2002). Characterization of the main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTLs on the genetic basis of yield traits in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 248–257.

Xing Y, Tang W, Xue W, Xu C, (2008). Fine mapping of a major quantitative trait loci, qSSP7, controlling number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 789-796.

Xing Y y Zhang Q (2010). Genetic and Molecular Bases of Rice Yield. *Annual Review of Plant Biology* 61: 421-442.

Yamamoto T, Yonemaru J, Yano M (2009). Towards the understanding of complex traits in rice. *DNA Research* 16: 141-154.

Yamauchi M (1994). Physiological bases of higher yield potential in F1 Hybrids. In SS. Virmani ed. *Hybrid rice technology: New developments and future prospects*: 71-80. International Rice Research Institute. Los Baños, Filipinas.

Yonezawa K. (1997). Yield components. In T Matsuo, Y Futsuhara, F Kikuchi, H Yamaguchi, eds, *Science of the Rice Plant, vol. III, Genetics*. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo, pp. 400-412.

Yong-xiang F (2008). Correlation and cluster analysis for yield properties of early-japonica rice in cold area. *J. Anhui. Agr. Sci.*, 23(49): 150-186.

Yoon DB, Kang KH, Kim HJ, Ju HG, ... (2006). Mapping quantitative trait loci for yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza grandiglumis* and the O.

sativa japonica cultivar Hwaseongbyeo. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1052-1062.

Yoshida S (1983). Rice. In *Potential productivity of field crops under different environments*. International Rice Research Institute, ed: 103-127. International Rice Research Institute. Los Baños, Filipinas.

Yu, J., Hu, S., Wang, J., Wong, G.K., Li, S., Liu, B., Deng, Y., Dai, L., Zhou, Y., Zhang, X., et al. (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* 296: 79-92.

Yuan, L., (2001). Breeding of super hybrid rice. In: Peng, S., Hardy, B. (Eds.), *Rice Research for Food Security and Poverty Alleviation*. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, pp. 143–149.

Yuan W, Peng S, Cao C, Virk P, ... (2011). Agronomic performance of rice breeding lines selected based on plant traits or grain yield. *Field Crops Research* 121: 168–174.

Zeng ZB (1994). Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457–1468.

Zeng LH, Shannon MC (2000). Salinity effects on seedling growth and yield components of rice. *Crop science* 40: 996-1003.

Zhang X, Zhou S, Fu Y, Su Z, (2006). Identification of a drought tolerant introgression line derived from Dongxiang common wild rice (*O. rufipogon* Griff.). *Plant Molecular Biology* 62: 247-259.

Zhang ZH, Qu XS, Wan S, Chen LH, ... (2004). Comparison of QTL Controlling Seedling Vigour under Different Temperature Conditions Using Recombinant Inbred Lines in Rice (*Oryza sativa*). *Annals of Botany* 95: 3423-3429.

Zhang WP, Shen X, Wu P, Hu B, ... (2001). QTLs and epistasis for seminal root length under a different water supply in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 103: 118-123.

Zhuang JY, Lin HX, Lu J, Qian HR, ... (1997). Analysis of QTL×environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 799-808.

Zhu Q, Zheng X, Luo J, Gaut BS, (2007). Multilocus Analysis of Nucleotide Variation of *Oryza sativa* and Its Wild Relatives: Severe Bottleneck during Domestication of Rice. *Mol Biol Evol* 24: 875-888.

Zuber, M.S. (1942). Relative efficiency of incomplete block designs using corn uniformity trial data. *Journal of the American Society of Agronomy, Madison*, **34**(1):30-47.

7. ANEJOS

Anejo 1. Diseño del ensayo en campo

REPETICIÓN 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	12
25	26	27	28	29	30	31	32	33	23	24
37	38	39	40	41	42	43	44	34	35	36
49	50	51	52	53	54	55	45	46	47	48
61	62	63	64	65	66	56	57	58	59	60
73	74	75	76	77	67	68	69	70	71	72
85	86	87	88	78	79	80	81	82	83	84
97	98	99	89	90	91	92	93	94	95	96
109	110	100	101	102	103	104	105	106	107	108
121	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

REPETICIÓN 2

1	13	25	37	49	61	73	85	97	109	121
2	14	26	38	50	62	74	86	98	110	111
3	15	27	39	51	63	75	87	99	100	112
4	16	28	40	52	64	76	88	89	101	113
5	17	29	41	53	65	77	78	90	102	114
6	18	30	42	54	66	67	79	91	103	115
7	19	31	43	55	56	68	80	92	104	116
8	20	32	44	45	57	69	81	93	105	117
9	21	33	34	46	58	70	82	94	106	118
10	22	23	35	47	59	71	83	95	107	119
11	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120

REPETICIÓN 3

1	14	27	40	53	66	68	81	94	107	120
15	28	41	54	56	69	82	95	108	121	2
29	42	55	57	70	83	96	109	111	3	16
43	45	58	71	84	97	110	112	4	17	30
46	59	72	85	98	100	113	5	18	31	44
60	73	86	99	101	114	6	19	32	34	47
74	87	89	102	115	7	20	33	35	48	61
88	90	103	116	8	21	23	36	49	62	75
91	104	117	9	22	24	37	50	63	76	78

105	118	10	12	25	38	51	64	77	79	92
119	11	13	26	39	52	65	67	80	93	106

REPETICIÓN 4

1	15	29	43	46	60	74	88	91	105	119
14	28	42	45	59	73	87	90	104	118	11
27	41	55	58	72	86	89	103	117	10	13
40	54	57	71	85	99	102	116	9	12	26
53	56	70	84	98	101	115	8	22	25	39
66	69	83	97	100	114	7	21	24	38	52
68	82	96	110	113	6	20	23	37	51	65
81	95	109	112	5	19	33	36	50	64	67
94	108	111	4	18	32	35	49	63	77	80
107	121	3	17	31	34	48	62	76	79	93
120	2	16	30	44	47	61	75	78	92	106

REPETICIÓN 5

1	16	31	35	50	65	69	84	99	103	118
17	32	36	51	66	70	85	89	104	119	2
33	37	52	56	71	86	90	105	120	3	18
38	53	57	72	87	91	106	121	4	19	23
54	58	73	88	92	107	111	5	20	24	39
59	74	78	93	108	112	6	21	25	40	55
75	79	94	109	113	7	22	26	41	45	60
80	95	110	114	8	12	27	42	46	61	76
96	100	115	9	13	28	43	47	62	77	81
101	116	10	14	29	44	48	63	67	82	97
117	11	15	30	34	49	64	68	83	98	102

REPETICIÓN 6

1	17	33	38	54	59	75	80	96	101	117
16	32	37	53	58	74	79	95	100	116	11
31	36	52	57	73	78	94	110	115	10	15
35	51	56	72	88	93	109	114	9	14	30
50	66	71	87	92	108	113	8	13	29	34
65	70	86	91	107	112	7	12	28	44	49
69	85	90	106	111	6	22	27	43	48	64

84	89	105	121	5	21	26	42	47	63	68
99	104	120	4	20	25	41	46	62	67	83
103	119	3	19	24	40	45	61	77	82	98
118	2	18	23	39	55	60	76	81	97	102

REPETICIÓN 7

1	18	24	41	47	64	70	87	93	110	116
19	25	42	48	65	71	88	94	100	117	2
26	43	49	66	72	78	95	101	118	3	20
44	50	56	73	79	96	102	119	4	21	27
51	57	74	80	97	103	120	5	22	28	34
58	75	81	98	104	121	6	12	29	35	52
76	82	99	105	111	7	13	30	36	53	59
83	89	106	112	8	14	31	37	54	60	77
90	107	113	9	15	32	38	55	61	67	84
108	114	10	16	33	39	45	62	68	85	91
115	11	17	23	40	46	63	69	86	92	109

REPETICIÓN 8

1	19	26	44	51	58	76	83	90	108	115
18	25	43	50	57	75	82	89	107	114	11
24	42	49	56	74	81	99	106	113	10	17
41	48	66	73	80	98	105	112	9	16	23
47	65	72	79	97	104	111	8	15	33	40
64	71	78	96	103	121	7	14	32	39	46
70	88	95	102	120	6	13	31	38	45	63
87	94	101	119	5	12	30	37	55	62	69
93	100	118	4	22	29	36	54	61	68	86
110	117	3	21	28	35	53	60	67	85	92
116	2	20	27	34	52	59	77	84	91	109

REPETICIÓN 9

1	20	28	36	55	63	71	79	98	106	114
21	29	37	45	64	72	80	99	107	115	2
30	38	46	65	73	81	89	108	116	3	22
39	47	66	74	82	90	109	117	4	12	31
48	56	75	83	91	110	118	5	13	32	40

57	76	84	92	100	119	6	14	33	41	49
77	85	93	101	120	7	15	23	42	50	58
86	94	102	121	8	16	24	43	51	59	67
95	103	111	9	17	25	44	52	60	68	87
104	112	10	18	26	34	53	61	69	88	96
113	11	19	27	35	54	62	70	78	97	105

REPETICIÓN 10

1	21	30	39	48	57	77	86	95	104	113
20	29	38	47	56	76	85	94	103	112	11
28	37	46	66	75	84	93	102	111	10	19
36	45	65	74	83	92	101	121	9	18	27
55	64	73	82	91	100	120	8	17	26	35
63	72	81	90	110	119	7	16	25	34	54
71	80	89	109	118	6	15	24	44	53	62
79	99	108	117	5	14	23	43	52	61	70
98	107	116	4	13	33	42	51	60	69	78
106	115	3	12	32	41	50	59	68	88	97
114	2	22	31	40	49	58	67	87	96	105

REPETICIÓN 11

1	22	32	42	52	62	72	82	92	102	112
12	33	43	53	63	73	83	93	103	113	2
23	44	54	64	74	84	94	104	114	3	13
34	55	65	75	85	95	105	115	4	14	24
45	66	76	86	96	106	116	5	15	25	35
56	77	87	97	107	117	6	16	26	36	46
67	88	98	108	118	7	17	27	37	47	57
78	99	109	119	8	18	28	38	48	58	68
89	110	120	9	19	29	39	49	59	69	79
100	121	10	20	30	40	50	60	70	80	90
111	11	21	31	41	51	61	71	81	91	101

REPETICIÓN 12

1	12	23	34	45	56	67	78	89	100	111
22	33	44	55	66	77	88	99	110	121	11
32	43	54	65	76	87	98	109	120	10	21
42	53	64	75	86	97	108	119	9	20	31
52	63	74	85	96	107	118	8	19	30	41
62	73	84	95	106	117	7	18	29	40	51
72	83	94	105	116	6	17	28	39	50	61
82	93	104	115	5	16	27	38	49	60	71
92	103	114	4	15	26	37	48	59	70	81
102	113	3	14	25	36	47	58	69	80	91
112	2	13	24	35	46	57	68	79	90	101