



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Departamento de Biotecnología

Análisis de los factores que determinan la resistencia al encamado y características de grano en arroz (*Oryza sativa* L.), y su asociación con otros caracteres, en varias poblaciones y ambientes: bases genéticas y QTLs implicados.

Memoria presentada por

Isabel Torró Torró

para optar al grado de

Doctor Ingeniero Agrónomo

Directores:

M^ºPau Bretó Monfort

Álvaro García de Yzaguirre

Valencia, Noviembre 2010

| | |
|---|-----------|
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Taxonomía | 1 |
| 1.2. Importancia económica del cultivo y distribución geográfica | 4 |
| 1.2.1. Origen y dispersión | 4 |
| 1.2.2. Producción y mercado mundial | 4 |
| 1.2.3. Impacto de la investigación en la productividad del arroz | 9 |
| 1.2.4. Producción y mercado en España | 11 |
| 1.3. Descripción del cultivo | 15 |
| 1.3.1. Morfología de la planta de arroz | 15 |
| 1.3.2. Ciclo vegetativo | 18 |
| 1.3.3. Condiciones y técnicas de cultivo | 20 |
| 1.3.4. Enemigos del cultivo de arroz | 23 |
| 1.4. El arroz como planta modelo para estudios genéticos | 28 |
| 1.5. Mejora de caracteres cuantitativos en arroz | 30 |
| 1.5.1. Primera aproximación a la genética cuantitativa | 33 |
| 1.5.2. Evaluación fenotípica y selección | 35 |
| 1.5.2.1. <i>Definiciones y componentes</i> | 35 |
| 1.5.2.2. <i>Análisis de varianza (ANOVA)</i> | 36 |
| 1.5.2.3. <i>Heredabilidad y respuesta a la selección</i> | 37 |
| 1.5.2.4. <i>Correlación entre caracteres</i> | 38 |
| 1.5.3. Análisis de QTLs | 39 |
| 1.5.3.1. <i>Definición y usos de los QTLs</i> | 39 |
| 1.5.3.2. <i>Detección de QTLs</i> | 41 |
| 1.5.4. Uso de marcadores moleculares en mejora | 49 |
| 1.5.4.1. <i>Concepto y características de un marcador</i> | 50 |
| 1.5.4.2. <i>Tipos de marcadores</i> | 50 |
| 1.6. Caracteres y objetivos de mejora estudiados en esta tesis | 57 |
| 1.6.1. El encamado | 57 |
| 1.6.2. Genética de la resistencia al encamado | 59 |
| 1.6.2.1. <i>Métodos de evaluación e índices de encamado</i> | 60 |
| 1.6.2.2. <i>La altura de la planta</i> | 61 |
| 1.6.2.3. <i>Características del tallo</i> | 63 |
| 1.6.2.4. <i>Número de hijuelos y panículas</i> | 66 |
| 1.6.2.5. <i>Peso del grano</i> | 67 |
| 1.6.2.6. <i>Maduración</i> | 67 |
| 1.6.2.7. <i>Porte</i> | 69 |
| 1.6.3. La calidad en arroz | 70 |
| 1.6.3.1. <i>Tamaño y forma del grano de arroz</i> | 71 |
| 1.6.3.2. <i>Perlado del grano de arroz</i> | 72 |
| 2. Objetivos | 75 |

| | |
|--|------------|
| 3. Materiales y métodos | 77 |
| 3.1. Material vegetal | 77 |
| 3.2. Evaluación fenotípica | 82 |
| 3.3. Análisis cuantitativo | 84 |
| 3.3.1. Distribuciones y medias | 84 |
| 3.3.2. Heredabilidad | 84 |
| 3.3.3. Comparación entre poblaciones y ambientes | 86 |
| 3.3.4. Correlaciones entre caracteres | 87 |
| 3.3.5. Respuesta a la selección | 87 |
| 3.4. Análisis molecular | 88 |
| 3.4.1. Extracción de ADN | 88 |
| 3.4.2. Identificación de polimorfismos y genotipado de la población F2MS | 89 |
| 3.4.3. Análisis de ligamiento de los marcadores | 90 |
| 3.4.4. Detección de QTLs | 91 |
| 4. Resultados | 93 |
| 4.1. Construcción del mapa de ligamiento de la población F2MS | 93 |
| 4.2. Análisis cuantitativo de las dos poblaciones | 113 |
| 4.2.1. Distribución de los caracteres | 113 |
| 4.2.2. Valoración de los parentales | 115 |
| 4.2.3. Medias y heredabilidades en las poblaciones | 116 |
| 4.2.4. Análisis de la varianza | 121 |
| 4.2.5. Correlación entre caracteres | 129 |
| 4.2.6. Respuesta a la selección | 146 |
| 4.3. Detección de QTLs en la población MS | 146 |
| 5. Discusión | 195 |
| 5.1. Análisis molecular de las poblaciones | 195 |
| 5.2. Implicación de la estructura poblacional en el análisis cuantitativo y de QTLs | 201 |
| 5.3. Caracteres relacionados con la elongación | 206 |
| 5.4. Caracteres relacionados con la producción | 213 |
| 5.5. Diámetro, porte y resistencia al doblado | 219 |
| 5.6. Maduración | 225 |
| 5.7. Dimensiones del grano | 229 |
| 5.8. Perlado del grano | 233 |

| | |
|--|------------|
| 6. Conclusiones | 241 |
| 7. Bibliografía | 247 |
| 7.1. Referencias bibliográficas | 247 |
| 7.2. Directorio web. | 284 |
| ANEXO I | 285 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de grano de la clasificación comercial de variedades en la Unión Europea.7

Figura 2 . Producción mundial de arroz y las intervenciones tecnológicas clave entre 1960 y 2007.....9

Figura 3 . Reservas de arroz de 1990 a 2007.....11

Figura 4. Partes de la hoja de arroz.....15

Figura 5. Esquema de la flor o espícula y de la inflorescencia del arroz (la panícula).....17

Figura 6. Esquema de una sección longitudinal del grano de arroz.....17

Figura 7. Ciclo de cultivo del arrozal valenciano.....21

Figura 8. Aspecto del encamado en parcelas de arroz.....58

Figura 9. Diferencias en la anchura de la corona según la altura para un mismo ángulo de inclinación.....69

Figura 10. Esquema del origen y generación del material vegetal utilizado en este trabajo.....78

Figura 11. Esquema del diseño experimental en cada una de las poblaciones....79

Figura 12. Balsetas y parcelas de campo en las que se cultivaron las plantas F2.....80

Figura 13 . Fases del cultivo de las líneas F3 y F4.....81

Figura 14. Medida de la resistencia al doblado.....83

Figura 15. Esquema de la segregación del marcador RM422 en la población F2MS.....95

Figura 16. Marcadores SSRs cribados en la población F2MS que presentan alelos y segregaciones no esperadas.....96

Figura 17. Mapa genético de las tres plantas híbridas que dieron lugar a F2MS.....100

Figura 18. Mapas de ligamiento de las subfamilias de F2MS.....106

Figura 19. Aspecto del porte de las líneas F3.....114

Figura 20. QTLs de los caracteres de longitud en la población MS.....157

Figura 21. QTLs de los caracteres de producción en la población MS.....168

Figura 22. QTLs de diámetro del tallo, porte de la planta y resistencia al doblado en la población MS.....177

Figura 23. QTLs de maduración en la población MS.....182

Figura 24. QTLs de dimensiones del grano y perlado en la población MS.....190

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Superficie cultivada de arroz, rendimiento y producción de arroz cáscara en 2007.....6

Tabla 2. Criterios para la clasificación comercial del arroz elaborado en la Unión Europea.....6

Tabla 3. Estructura varietal de las zonas arroceras en España. Campaña 06/07..14

Tabla 4. Principales malas hierbas del arroz.....24

Tabla 5. Códigos utilizados en la designación de los alelos en el genotipado.....94

Tabla 6. Genotipos, segregación y resultados de la prueba Chi-cuadrado de los marcadores analizados en la población F2MS dividida en subfamilias.....97

Tabla 7. Abreviaturas de los caracteres analizados.....115

Tabla 8. Media y desviación típica de los caracteres estudiados en las líneas parentales de las familias J y MS, y sus respectivos progenitores.....116

Tabla 9. Medias, desviaciones típicas, heredabilidades en sentido amplio (H^2 , en F2 y F3) y en sentido estricto (h^2 , en F3) de todos los caracteres medidos.....117

Tabla 10. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre los testigos.....122

Tabla 11. Cuadrados medios del Análisis de Varianza de las familias J y MS y de las subfamilias del cruce MS, en F2.....124

Tabla 12. Cuadrados medios del Análisis de Varianza de los ambientes estudiados, en F2125

Tabla 13. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre las subfamilias F2 (A, B y C).....126

| | |
|--|-----|
| Tabla 14. Cuadrados medios del Análisis de Varianza de las familias J y MS y de las subfamilias del cruce MS, en F3..... | 128 |
| Tabla 15. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre las subfamilias F3 (A, B y C)..... | 128 |
| Tabla 16. Correlaciones fenotípicas entre los caracteres estudiados en F2..... | 133 |
| Tabla 17. Correlaciones fenotípicas entre los caracteres estudiados en F3..... | 143 |
| Tabla 18. Respuesta a la selección en los caracteres relacionados con el encamado..... | 146 |
| Tabla 19. QTLs de los caracteres de longitud en la población MS..... | 151 |
| Tabla 20. QTLs de los caracteres de producción en la población MS..... | 163 |
| Tabla 21. QTLs de diámetro del tallo, porte de la planta y resistencia al doblado en la población MS..... | 174 |
| Tabla 22. QTLs de maduración en la población MS..... | 181 |
| Tabla 23. QTLs de dimensiones del grano y perlado en la población MS..... | 186 |
| Tabla 24. Marcadores con segregación distorsionada en este estudio que coinciden con los hallados en estudios anteriores y con genes de esterilidad.... | 200 |
| Tabla 25. Comparación de los QTLs identificados con los publicados hasta el momento en el género <i>Oryza</i> | 238 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN:** Ácido desoxiribonucleico.
- ADNc:** ADN complementario (o copia).
- ANOVA:** Análisis de varianza.
- AP-PCR:** PCR con oligonucleótidos arbitrarios.
- BOE:** Boletín oficial del Estado.
- BYDV:** Virus del enanismo amarillo de la cebada.
- CAPA:** Consellería de agricultura, pesca y alimentación.
- CEE:** Comunidad económica Europea.
- CIM:** Mapeo por intervalos compuesto.
- DH:** Dobles haploides.

DOGV: Diari oficial de la Generalitat Valenciana.

F1: Primera generación procedente de un cruzamiento.

F2, F3 (Fn, en general): Generación procedente de la autofecundación de la generación (n-1).

FAOSTAT: Información estadística de la Organización para la alimentación y agricultura (FAO) de las Naciones Unidas.

ICIS: Sistema de información internacional del cultivo.

IRRI: Instituto internacional de investigación del arroz, Filipinas.

IVIA: Instituto valenciano de investigaciones agrarias.

LOD: Probabilidad relativa (es el logaritmo de LR).

LR: Relación de probabilidad.

MAPA: Ministerio de agricultura, pesca y alimentación (actual MARM: Ministerio de medio ambiente, medio rural y marino).

MAS: Selección asistida por marcadores.

MDS: Mínima diferencia significativa.

MIM: Mapeo por intervalos múltiple.

NARS: Sistema nacional de investigación agraria.

NCBI: Centro nacional para información biotecnológica.

NIL: Línea cuasi isogénica.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

QTL: Locus que influye en un carácter cuantitativo.

REDB: Base de datos de EST de arroz.

RGP: Programa de investigación del genoma del arroz.

RIL: Línea recombinante.

RM: Microsatélite de arroz.

SAS (1): Síndrome de evitación del sombreado.

SAS (2): Software para análisis estadístico. SAS Institute Inc. Cary, NC EEUU.

SD: Desviación típica.

SIM: Mapeo por intervalos simple.

SSR: Repetición de una secuencia simple (o ADN microsatélite).



1. Introducción

1. Introducción

1.1. Taxonomía

El arroz es una planta monocotiledónea de la familia de las gramíneas. Su clasificación sistemática es:

- Reino: ***Plantae***
- Subreino: ***Tracheobionta*** (plantas vasculares)
- Superdivisión: ***Spermatophyta*** (plantas con semillas)
- División: ***Magnoliophyta*** (angiospermas)
- Clase: ***Liliopsida*** (monocotiledóneas)
- Subclase: ***Commelinidae***
- Orden: ***Cyperales***
- Familia: ***Poaceae*** (gramíneas)
- Género: ***Oryza* L.**

El género *Oryza* se originó probablemente hace 130 millones de años en Gondwana, el supercontinente que en su división dio lugar a Sudamérica, África, Australia, el Indostán (que comprende India, Pakistán, Bangladesh, Sri Lanka, Maldivas, Bután y Nepal), la isla de Madagascar y la Antártida (Chang, 1976), de modo que, tras la separación, sus diferentes especies se distribuyeron en estos continentes, excepto en la Antártida, tras la separación (Khush, 1997). *Oryza* comprende 20 especies silvestres y 2 cultivadas, que pueden ser clasificadas según su genoma en ocho grupos; AA, CC, BBCC, CCDD, EE, HHJJ, GG y FF. Dentro del grupo del genoma AA hay siete especies, clasificadas en dos grandes grupos: por un lado, el grupo Latifolia, que incluye especies que crecen en estado silvestre y son una importante reserva de variabilidad genética en caracteres de interés agronómico, como resistencias a estreses bióticos y abióticos, o para la mejora del potencial de cultivo (*O. rufipogon*, *O. barthii*, *O. longistaminata*, *O. meridionalis* y *O. glumaepatula*); y por otro lado, el grupo Sativa, que incluye las dos especies cultivadas (*O. sativa* y *O. glaberrima*). Estas dos especies son diploides, con $2n=24$, anuales y principalmente autógamas, a diferencia de las especies silvestres que pueden ser anuales o perennes, alógamas o autógamas

(Vaughan y col., 2003). Mientras que *O. glaberrima* se cultiva a pequeña escala en el oeste de África, *O. sativa* se cultiva en todo el mundo (Khush, 1997).

O. sativa L. incluye unas 120.000 variedades descritas, de las que unas 83.000 se encuentran recogidas en el banco de germoplasma del IRRI (International Rice Research Institute, Filipinas). Dentro de esta especie se han distinguido tradicionalmente tres subespecies ecogeográficas diferenciadas según las características morfológicas de la planta: *indica*, *japonica* y *javanica* (Aliaga, 1984; Katayama, 1993). Sin embargo, la compleja historia de la evolución y domesticación de este cultivo sigue siendo controvertida, y esta clasificación está en entredicho. Diversos estudios con marcadores moleculares pueden arrojar alguna luz, pues coinciden en agrupar el germoplasma conocido en sólo dos grandes grupos; aunque Glaszmann (1987) utilizando isoenzimas diferenció hasta seis subgrupos diferentes (*indica*, *japonica*, aromáticos, *aus*, *rayada* y *ashina*, estos tres últimos constituidos por un reducido grupo de variedades adaptadas a condiciones eco-fisiológicas muy particulares), el análisis filogenético coincide en una clasificación dicotómica con otros estudios realizados con RFLPs (Wang y Tanksley, 1989; Zhang y col., 1992), ISSRs y AFLPs (Blair y col., 1999), y SSRs (Garris y col., 2005). De este modo, la subespecie *japonica* incluiría a los arroces aromáticos y a los anteriormente considerados *javanica* (a los que se pasó a llamar *japonica tropical*), mientras que *indica* englobaría al resto de tipos.

Sin embargo, la división en tres subespecies sigue aplicándose de forma habitual, especialmente en el ámbito de la mejora, por lo que se describen a continuación las principales características de estos grupos:

- ***Indica***. Planta indígena de las regiones húmedas de los trópicos y subtropicos de Asia (como India, Tailandia, etc.), aunque se encuentran variedades de esta subespecie en otras latitudes. La mayoría de sus variedades se caracterizan por sus granos largos. La talla de la planta es alta, tiene un importante ahijamiento, sus panículas son largas y poco apretadas, y sus hojas suelen ser largas, inclinadas y de color verde pálido. Su respuesta a las dosis elevadas de abonado es muy baja y por ello se han considerado a menudo variedades poco aptas para el cultivo moderno. Sin embargo, el esfuerzo en su mejora ha permitido obtener variedades que producen elevados rendimientos en condiciones de cultivo intensivo. La expansión de este tipo de arroces se ve frenada por su baja

adaptación a algunos suelos y por su sensibilidad a las bajas temperaturas.

- ***Japonica templado***. Planta propia de las partes montañosas de Asia, las zonas templadas del norte de China, Corea y Japón, e introducida en los países mediterráneos, Sur y Norte América. Los granos tienen formas variadas, no necesariamente ancha o redondeada, como suele admitirse, aunque los granos redondos, cortos o semilargos son los mayoritarios. Tiene una talla media-baja, con un ciclo vital corto y una tendencia al ahijamiento medio; sus hojas son cortas o medias, y sus panículas más compactas que las de *indica*. La variabilidad morfológica de este grupo es muy amplia. Sus panículas no desgranar con facilidad y tiene ausencia de dormancia seminal. Sus hojas son relativamente erectas y de color verde intenso. Dentro del grupo se encuentran variedades que poseen cualidades muy apreciadas, como la resistencia al frío y a la sequía, o su adaptabilidad a suelos pobres.
- ***Japonica tropical***. Este tipo (conocido hasta recientemente como *javanica*), se cultiva principalmente en Java y otras islas de Indonesia, y en África occidental, pero también en algunas regiones de Brasil. Tiene un grano medio, la planta es de talla medio-alta y las hojas son más anchas y pubescentes que las de la subespecie *japonica templado*.

Los grupos *japonica templado* e *indica* son los más importantes y engloban a la mayoría de las variedades cultivadas (Faure y Mazzaud, 1995). En China ya se distinguían estos 2 grupos desde la dinastía Han (alrededor del año 100), denominándolos arroces Hsien (*indica*) y arroces Keng (*japonica*) (Kato y col., 1928; Matsuo y col., 1997). Como se ha indicado, estos grandes grupos varietales presentan algunas características particulares, pero durante el largo e intenso proceso de mejora del arroz, muchas de las variedades obtenidas combinan genes de varios ecotipos de arroz, incluso de germoplasma silvestre, dando lugar a la aparición de tipos intermedios. Por tanto, la diferenciación en ecotipos inicial se ha ido diluyendo. Además, se ha producido el desplazamiento de la mayoría de variedades antiguas por las nuevas variedades mejoradas. Por ello se crearon los bancos de germoplasma que, con la preservación de variedades tradicionales, mantienen la biodiversidad y salvaguardan los recursos genéticos para futuros programas de mejora.

1.2. Importancia económica del cultivo y distribución geográfica

1.2.1. Origen y dispersión

Según las referencias históricas, el cultivo del arroz comenzó hace casi 10.000 años en varias regiones húmedas de Asia tropical y subtropical. Posiblemente sea India el país donde se cultivó por primera vez, ya que allí abundan los arroces silvestres. Pero el desarrollo del cultivo tuvo lugar en China, uno de los principales centros de diversidad genética, y allí se encuentran abundantes razas locales tanto de la subespecie *indica* como de *japonica*. Probablemente hubo varias rutas por las cuales se introdujeron los arroces de Asia a otras partes del mundo. El mundo occidental entró en contacto con este cultivo en el siglo IV a.C. gracias a las incursiones bélicas de Alejandro Magno. El nombre de "Oryza" es una aportación griega referida al estado indio de Orissa. Con alta probabilidad, fueron los árabes quienes lo trajeron a la Península Ibérica cuando la conquistaron en 711, o anteriormente los bizantinos (Lujan, 1997). El origen del nombre en castellano tal y como lo conocemos actualmente proviene de la palabra de origen árabe "al-ruzz". En la segunda mitad del siglo XV el arroz llegó a Italia y luego a Francia, propagándose a todos los continentes durante la época de los grandes descubrimientos. Los españoles lo llevaron a Sudamérica a principios del siglo XVIII.

1.2.2. Producción y mercado mundial

Se trata de un cultivo muy diverso. Por un lado, se cultiva en latitudes muy extremas: desde los 55°N al norte de China hasta los 36°S de Uruguay y Australia. Además, puede crecer en alturas que van desde los 3000 m, como en Nepal, hasta los 3 m bajo del nivel del mar, como en algunos cultivos de inundación en la India (Khush, 2005). La mayor parte los cultivos de este cereal en el mundo se dan en ecosistemas de irrigación (55% del total cultivado: todo el de Europa, América del Norte, Oceanía y más de la mitad del de Asia), seguido por los de secano (35-40%) y finalmente en inundación (5-10%) (Carreres, 2003); el cultivo inundado también es variable, ya que la lámina de agua puede tener desde 40 cm hasta 8 m, en el caso de los llamados arroces flotantes. El arroz es una planta anual, aunque en algunas regiones tropicales, donde las condiciones climáticas son favorables, llega a crecer como perenne. Este abanico de posibilidades se debe, en parte, a la gran diversidad de variedades existentes y a su adaptación a las diferentes condiciones de cultivo.

Aunque actualmente es el tercer cereal mundial en cuanto a producción después del trigo y el maíz, el arroz es el cultivo de mayor importancia, ya que ocupa la mayor superficie y es la principal fuente de alimentación para más de la mitad de la población mundial; de hecho, prácticamente toda su producción se destina a la alimentación humana. A nivel mundial, el arroz proporciona más calorías por hectárea que cualquier otro cultivo. Más de tres mil millones de personas de todo el mundo se alimentan básicamente de arroz, principalmente en Asia, donde aporta entre un 40 y un 70% del total de calorías a la alimentación. Tanto es así que en algunos idiomas, las palabras para arroz y comida, o arroz y agricultura, son sinónimos. Además de su importancia como alimento, el arroz es la principal fuente de ingresos en el mundo rural de los países en vías de desarrollo, siendo así en la mayor parte de Asia y, en gran medida, de África y América. La superficie dedicada al cultivo de arroz es de 154 millones de hectáreas, que suponen aproximadamente un 11% de la superficie total cultivada.

Se pueden distinguir tres grandes modelos de consumo de arroz (Carreres, 2003):

- **Modelo asiático**, con un consumo medio superior a los 80Kg/habitante y año (China, 90Kg; Indonesia, 150Kg; Myanmar, más de 200Kg).

- **Modelo subtropical**, con un consumo medio de entre 30 y 60Kg/habitante y año (Colombia, 40Kg; Brasil, 45Kg; Costa de Marfil, 60Kg)

- **Modelo occidental**, con un consumo medio inferior a 15Kg/habitante y año (Francia, 4Kg; España, 7Kg; USA, 9Kg; Portugal, 14Kg).

Cada año se producen más de 650 millones de toneladas de arroz en el mundo. El mayor productor es China, seguido de India (aunque ésta tiene la mayor superficie dedicada a este cultivo). En cambio, el mayor exportador es Tailandia, mientras que Irán, Irak y Arabia Saudí son los principales importadores. En la Unión Europea se producen alrededor de 2,7 millones de toneladas de arroz, ocupando una superficie cultivada de 419.316 hectáreas, y siendo los mayores productores Italia (55,5%) y España (24,25%) (Tabla 1; FAOSTAT, 2009).

| | Superficie cultivada (ha) | Rendimiento (Kg/ha) | Producción (toneladas) |
|----------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|
| Mundo | 156.952.666 | 4.152 | 651.742.616 |
| China | 29.495.000 | 6.341 | 187.040.000 |
| India | 44.000.000 | 3.208 | 141.134.000 |
| Unión Europea | 419.316 | 6.389 | 2.678.965 |
| Italia | 232.500 | 6.422 | 1.493.200 |
| España | 101.700 | 6.896 | 701.300 |
| Grecia | 25.700 | 7.809 | 200.700 |
| Portugal | 25.400 | 6.087 | 154.600 |
| Francia | 18.000 | 5.167 | 93.000 |
| Rumanía | 7.016 | 3.330 | 23.365 |
| Hungría | 2.400 | 4.042 | 9.700 |

Tabla 1. Superficie cultivada de arroz, rendimiento y producción de arroz cáscara en 2007. Fuente: FAOSTAT 2009

Las variedades de arroz difieren ampliamente en la forma y tamaño de su grano. Independientemente de la clasificación botánica, comercialmente se denominan arroces de “perfil indica” todas aquellas variedades cuyos granos tienen un aspecto largo y delgado. Este perfil engloba a la mayoría de los arroces del grupo *indica* y algunas variedades de la subespecie japónica templado (Faure y Mazaud, 1995). De hecho, prácticamente todos los arroces cultivados en Europa como “perfil indica”, no lo son desde un punto de vista estrictamente botánico. Las variedades cuyos granos son más cortos y gruesos se agrupan como “perfil japónica”. Las normativas que rigen en los diferentes mercados clasifican los arroces en diversos tipos, según la longitud y la forma (relación longitud/anchura) de los granos elaborados. Existen cuatro tipos según la legislación de la Unión Europea (Reglamento CEE nº 1785/2003): grano largo (A o B), medio y redondo (Tabla 2 y Figura 1).

| Tipo de grano | Redondo | Medio | Largo A | Largo B |
|------------------|---------|---------------|-----------------|---------|
| Longitud (mm) | ≤ 5,2 | 5,2 < L ≤ 6,0 | > 6,0 | > 6,0 |
| Longitud/anchura | < 2,0 | < 3,0 | 2,0 < L/a ≤ 3,0 | ≥ 3,0 |

Tabla 2. Criterios para la clasificación comercial del arroz elaborado en la Unión Europea

En el mercado, las preferencias de tamaño y forma varían ampliamente de unos consumidores a otros y esto influye en las variedades que se cultivan en cada zona. Las consideraciones comerciales, además de las agronómicas, son decisivas a la hora de seleccionar la variedad a sembrar. En el mercado internacional existe una gran demanda de arroz de grano largo (Kaosa-ard y Juliano, 1991). En Europa septentrional hay preferencia por el arroz largo A y B (Faure y Matzaud, 1995), mientras que en los países productores del sur (Grecia, España, Italia, Portugal) se prefiere el grano redondo o medio (Briz y *col.*, 1997). Sin embargo, España es el primer país de la Unión Europea en producción de grano largo, que se destina mayoritariamente a la exportación. Basándonos en las preferencias, el mercado mundial de arroz demanda cinco tipos de arroz: grano largo tipo *índica*, grano medio o corto tipo japónica, aromático, sancochado o “parboiled” y glutinoso (Efferson, 1985):



Figura 1. Tipos de grano de la clasificación comercial de variedades en la Unión Europea (izquierda, arroz cáscara; centro, “cargo” (descascarillado o integral); y derecha, elaborado).

❖ **Grano largo:** representa el 70-80 % del mercado mundial. Es estrecho y cristalino, cuece suelto, esponjoso y con brillo. Su consumo es preferente en el Sudeste y Sur de Asia, EEUU e Hispanoamérica. En Europa se prefiere en los países del Norte, habiendo aumentado además su demanda en los últimos años como consecuencia de la inmigración y el cambio de hábitos en la alimentación, hasta el punto de que su consumo ha sobrepasado al de japónica desde 1999/2000. Por otra parte, este tipo de arroz se usa también para productos procesados. Para satisfacer esta demanda, la mejora de variedades de grano largo es un objetivo importante. Por eso, en España las variedades de este tipo están adquiriendo gran importancia dentro del abanico de variedades cultivadas (Carreres y *col.*, 2003). Cabe citar ‘Alena’, ‘Minima’, ‘Brisa’, ‘Carmen’, ‘Jacinto’, y la recientemente registrada ‘Cormorán’, todas de talla baja y productivas.

❖ **Grano medio o corto:** de granos perlados o cristalinos, su mercado representa sólo el 10% del total. Se cultiva en Japón, Corea, Taiwán, zonas de China, Australia, el Mediterráneo, Brasil y California. Sus granos se caracterizan porque quedan húmedos y tiernos (y tienden a pegarse cuando se cuecen,

excepto algunas variedades como la española 'Bomba'). En Europa se consume este tipo de arroz en los países de la cuenca mediterránea, y se destina principalmente a la preparación de platos tradicionales, como el "risotto" o la paella, o en sopas y postres. Los programas de mejora tratan de obtener variedades que mejoren agronómica y/o cualitativamente a las tradicionales o que se destinen al mercado exterior. En España se han obtenido con estas características numerosas variedades de talla baja y productivas, destacando entre las más recientes 'Senia', 'Fonsa', 'Montsianell', 'Gleva', 'Jsendra', 'Sivert', 'Sarcet' y 'Albufera', esta última con las características culinarias de 'Bomba'.

❖ **Arroces aromáticos:** representan el 10-15% del mercado mundial, fundamentalmente el arroz tipo "jasmine" de Tailandia y el "basmati" de India y Pakistán. Actualmente, en los países asiáticos desarrollados, como Japón, y en los de gran crecimiento económico (Corea del Sur, Tailandia, Malasia y más recientemente China y Filipinas), con sus necesidades calóricas cubiertas, se observa un aumento de la demanda de arroces de calidad (Pingali y *col.*, 1997). Aunque los consumidores europeos muestran un creciente interés en el consumo de arroz aromático, glutinoso o con el pericarpio rojo o negro, su demanda representa sólo una pequeña parte del mercado.

❖ **Arroz sancochado o "parboiled":** este tipo de arroz se obtiene mediante un tratamiento hidrotérmico (con vapor de agua) del arroz antes de quitar la cáscara. Esto da lugar a un grano ambarino, vítreo y que queda suelto en la cocción. Además, durante este tratamiento una parte de las vitaminas y de los minerales de las capas externas difunden al interior del endospermo y no se eliminan en el proceso de blanqueado. Conocido de forma casi general como arroz "brillante", este arroz precocinado no queda sobrecocido (no "se pasa"), aunque la escasa posibilidad de que absorba los restantes componentes del plato tras su manipulación, así como su textura gomosa, lo hacen poco atractivo sensorialmente.

❖ **Arroz glutinoso o ceroso:** este tipo de arroz se caracteriza porque el almidón del endospermo está compuesto únicamente por amilopectina (es decir, no hay presencia de amilosa) y porque tras la cocción los granos quedan pegados. Sus granos son opacos y con bajo porcentaje de roturas. Su consumo está limitado casi enteramente a los países asiáticos.

1.2.3. Impacto de la investigación en la productividad del arroz

El arroz ha sido siempre una pieza clave en el abastecimiento de alimentos y la estabilidad socioeconómica a nivel mundial, pero no fue hasta que su precio llegó al pico más alto de la historia cuando se entendió la gran importancia de este cereal: a principios del año 2008, el precio de las exportaciones se triplicó en pocos meses, y el arroz se convirtió en noticia de portada no sólo en el continente asiático, donde es un elemento básico como fuente de riqueza y de alimentación, sino en el resto de países del mundo en los que apenas se cultiva y su consumo es mucho menor.

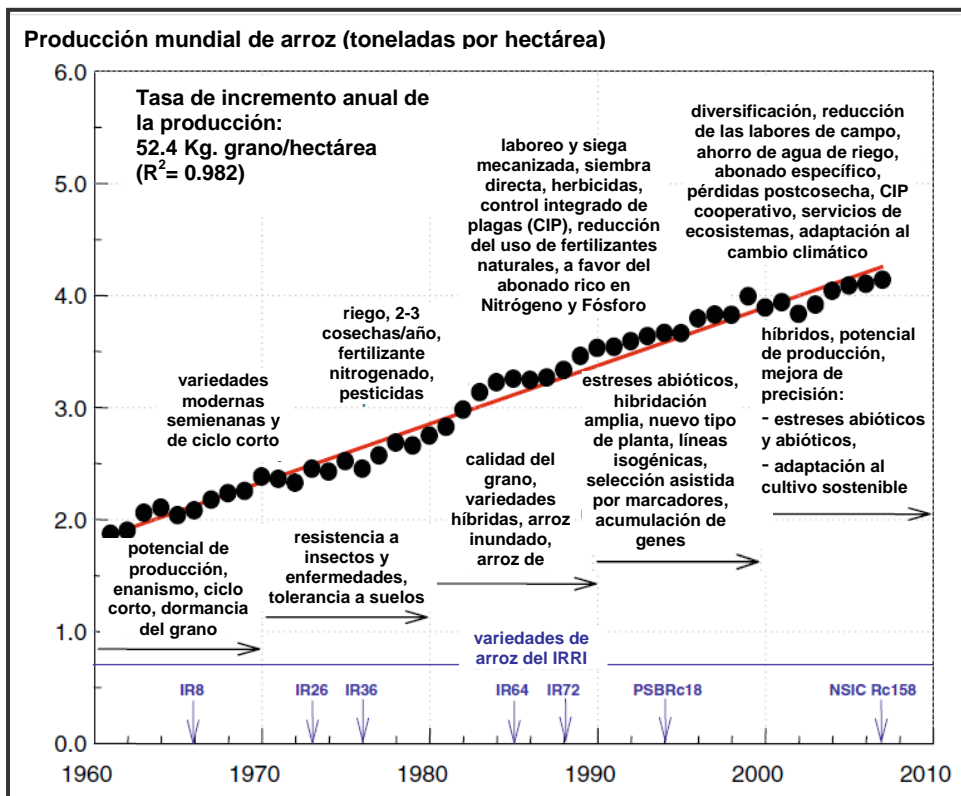


Figura 2 . Producción mundial de arroz e intervenciones tecnológicas clave entre 1960 y 2007. En la parte inferior de la línea de tendencia se indican los cambios en los objetivos de mejora y las variedades obtenidas en el IRRI. En la parte superior, los principales cambios en el manejo del cultivo y los logros. Zeigler y Barclay (2008).

Los motivos de esta escalada del precio son diversos y se pusieron de manifiesto las consecuencias del desabastecimiento. Durante los años 1950 y 1960, el rápido aumento de la población provocó una alarma por la insuficiencia de los recursos para abastecer de alimentos a toda la población. En 1959 se fundó el IRRI, en el marco de un acuerdo forjado por las fundaciones Rockefeller y Ford con el Gobierno de Filipinas, con el objetivo de aplicar los avances científicos para resolver los problemas de la producción de arroz. Los resultados de este esfuerzo se empezaron a notar a partir de 1966 con la aparición en el mercado de la variedad IR8, la primera variedad *indica* de alto rendimiento, que dobló el potencial de producción del arroz tropical cultivado hasta el momento. Esto fue el inicio del fenómeno conocido como “la revolución verde” en el arroz.

Desde entonces el IRRI, junto con los NARS (National Agricultural Research Systems), han ido desarrollando una serie de variedades mejoradas tanto en la producción como en muchos otros caracteres como la calidad del grano, la duración del ciclo de crecimiento, resistencia a enfermedades e insectos y tolerancia a estreses abióticos (Figura 2). Todo esto hizo que desde 1966 a 1990 la producción mundial de arroz se duplicara y, consecuentemente, el precio del arroz descendiera, resolviendo el problema de abastecimiento en los países dependientes del arroz, como los asiáticos. A principios de los 90, la inversión pública en investigación se trasladó a otros campos, suponiendo que el problema de la seguridad alimentaria estaba resuelto definitivamente. Con el descenso de la inversión en investigación, el crecimiento de la productividad de las décadas anteriores se ha ido estancando, mientras que el creciente aumento de la población implica un mayor consumo de arroz del que se produce y las reservas de arroz se van reduciendo (Figura 3), una de las razones del brusco incremento de los precios ocurrido en 2008. Para dar una respuesta a esta nueva crisis, en junio del 2008 desde las Naciones Unidas se aprobó retomar la agenda de ayudas a la investigación para estimular la producción y la productividad de arroz. Esto es de vital importancia, ya que como se puede observar en la página web del IRRI (www.irri.org), al mismo tiempo que aumenta la población disminuye la superficie disponible para el cultivo.

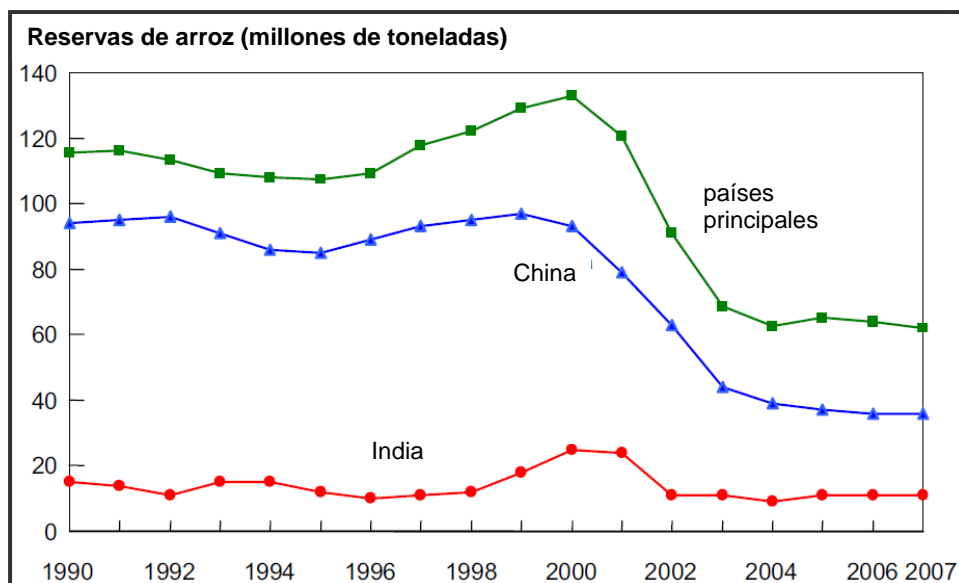


Figura 3. Reservas de arroz entre 1990 y 2007. Fuente: PSD Online (www.fas.usda.gov/psdonline/psdhome.aspx), USDA, 2008.

En este nuevo camino, según Zeigler y Barclay (2008), es necesaria una revolución simultánea en biología molecular y genética, desarrollo informático, capacidad de almacenamiento, prácticas culturales, sostenibilidad ambiental, optimización de recursos (como el agua, un bien cada día más limitado) y en la comunicación (para que científicos de todo el mundo puedan compartir y analizar el gran volumen de datos y conocimientos acumulados).

1.2.4. Producción y mercado en España

La península Ibérica fue la primera zona europea en la que se introdujo el cultivo del arroz, particularmente en la cuenca mediterránea. La necesidad de agua de este cereal ha limitado su cultivo casi por completo a las proximidades de los ríos, lo que facilita el cultivo en regadío.

La productividad por hectárea en España es una de las mayores del mundo, gracias a la aplicación de las últimas tecnologías en cultivos y a la constante labor de investigación y mejora en los procesos productivos.

En España se cultiva arroz en las siguientes zonas arroceras (datos de superficie, producción y rendimiento correspondientes a la campaña del 2007; MAPA, 2008):

❖ Andalucía

La zona arroceras andaluza se extiende a ambos márgenes del río Guadalquivir, principalmente en la comarca de las Marismas (Sevilla). Esta región suele representar el 33% del total nacional, pero las restricciones en el agua de riego acompañadas por problemas de salinidad pueden llegar a reducir la superficie cultivada hasta en un 50% en los años de sequía; así, por ejemplo en el año 2007 se cultivaron 23.685ha de las cerca de 40.000ha que suelen dedicarse a este cultivo. Los rendimientos en grano de las explotaciones andaluzas se sitúan alrededor de los 8.000-8.800Kg/ha.

Las condiciones climáticas son bastante benignas para el cultivo del arroz. Se presentan algunos problemas durante la siembra (por la presencia de fuertes vientos de Levante, que pueden dificultar el enraizamiento de las plántulas) y durante la siega (por precipitaciones).

Predomina la explotación mediana, de 25-30ha, mucho mayor que la superficie media de otras zonas arroceras; este hecho, junto a otros factores, permite la producción de arroz a unos costos unitarios inferiores a los de otras regiones.

❖ Extremadura

Prácticamente todo el cultivo de arroz de esta comunidad se concentra en la provincia de Badajoz (85%). En total se cultivan unas 26.700ha situadas en la vega del Guadiana, en las proximidades de Don Benito, Medellín y Villanueva de la Serena. Los rendimientos medios se sitúan en torno a los 6.500-7.500Kg/ha.

❖ Cataluña

En Cataluña se produce arroz en tres de sus cuatro provincias, aunque es en Tarragona donde se localiza el 97% de la producción, principalmente en la zona del Delta del Ebro, en la que se cultivan unas 21.000ha con un rendimiento de 5.500-6.000Kg/ha. Esta zona es un humedal de gran importancia ecológica que

se encuentra dentro del Parque Natural del Delta del Ebro, lo que conlleva limitaciones para el cultivo. Es una zona de gran estabilidad productora, que aporta el 16-19% de la producción nacional. Otra zona productora se sitúa en Pals (Girona), en la desembocadura del río Ter, en la que se cultivan unas 800ha con un rendimiento de 6.500Kg/ha. En general, la climatología de esta comunidad es bastante benigna para el cultivo del arroz.

Un problema muy importante en la zona arroceras del Delta del Ebro es la existencia de una gran infestación de arroz rojo. La realización de ciertas prácticas culturales en combinación con antigerminativos químicos ha mejorado sustancialmente el problema en los últimos años.

❖ Comunidad Valenciana

La superficie de cultivo supera las 15.000ha, en las que se produce el 14-17% de la producción nacional. El rendimiento se sitúa en torno a los 8.000Kg/ha. El 90% del total de la superficie cultivada en la Comunidad Valenciana se localiza dentro de los límites del Parque Natural de la Albufera, del que supone el 75% de su superficie, y la desembocadura del río Xúquer. Cuatro poblaciones reúnen el 75% del total de la superficie cultivada: Sueca, Sollana, Cullera y Silla. También en la Marjal de Pegó-Oliva se cultivan 267ha de arroz, de las que 3,5 se dedican al cultivo ecológico.

En el año 1997 se llegó al reconocimiento oficial de la *Denominación de Origen "Arroz de Valencia"* (Orden del 11 de Junio de 1997 de la Consellería de agricultura, pesca y alimentación, D.O.G.V., 1997). Las variedades incluidas en esta Denominación de Origen son Bahía, Senia, Bomba y Jsendra.

❖ Aragón

La superficie cultivada en Aragón ocupa 11.756ha, de las cuales el 63% se localiza en la provincia de Huesca, y el resto en Zaragoza y Teruel. Los rendimientos en arroz cáscara en esta comunidad se estiman entre los 3.000 y los 6.000Kg/ha.

Los principales problemas en esta zona productora son el abancalamiento del terreno, la inexistencia de medios para la regulación del agua y las bajas temperaturas que se registran durante la época de siembra. Las restricciones de

agua pueden provocar reducciones de más del 18% de la superficie cultivada, aunque es una de las zonas españolas en que este cultivo está en expansión.

❖ Navarra

Las cerca de 2.000ha de cultivo de Navarra se agrupan en dos núcleos: por un lado, las proximidades del río Ebro, en municipios como Arguedas, Valtierra, Murillo de las Limas o Tudela; y por otro lado, en los regadíos de Bárdenas, Rada o Catarrosos. Los rendimientos medios que se obtienen se sitúan entre los 4.000-5.000Kg/ha. Las primaveras frías de estas zonas hacen necesario el uso de variedades de ciclo corto.

❖ Murcia y Albacete

Calasparra y Moratalla en Murcia, la vega del Segura, junto con Hellín en Albacete, son las zonas productoras emblemáticas de la primera Denominación de Origen de arroz en España: *D.O. Calasparra* (B.O.E. Orden de 19 de Febrero de 1986). La superficie cultivada es de unas 570ha, con un rendimiento de 4.000-6.500Kg/ha.

En España, tradicionalmente, la mayor parte del grano que se ha producido es redondo o mediano, aunque la tendencia actual es a aumentar la producción de arroz largo o semilargo, dedicado principalmente a la exportación. La mayor parte del grano de tipo índica se produce en Andalucía y Extremadura. En la tabla 3 se presenta la estructura varietal de las diferentes zonas arroceras, destacando las variedades más cultivadas en cada una de ellas. Cabe destacar que en la Comunidad Valenciana y en Cataluña, las variedades Senia y Bahía, que han sido predominantes hasta recientemente, están dejando paso a variedades de talla más baja y más productivas como Fonsa, Montsianell, Jsendra y Gleva.

| | <i>Perfil índica</i> | <i>Perfil japónica</i> |
|-----------------------------|---------------------------|---|
| Andalucía | 90% Puntal | 10% |
| Aragón | | 85% Guadiamar; 10% Loto |
| Extremadura | 44% Thaibonet; 30% Gladio | 20% Thaiperla; 4,5% Hispagran |
| Cataluña | | 100% Bahía, Senia y Montsianell |
| Navarra | | 85% Guadiamar; 12% Loto |
| Comunidad Valenciana | | 45% Fonsa; 45% Senia, Montsianell, etc. |

Tabla 3. Estructura varietal de las zonas arroceras en España. Campaña 06/07.

1.3. Descripción del cultivo

1.3.1. Morfología de la planta de arroz

Los órganos vegetativos de la planta de arroz son tallo, hojas y raíces, y los órganos reproductivos son las flores y las semillas, con una morfología parecida a la de algunos otros cereales.

- El **tallo** es redondo y está compuesto por un número variable de nudos y entrenudos que se alargan durante la fase vegetativa hasta la floración. La altura final de las plantas es de 0,5 a 1,5m en la mayoría de variedades, aunque alguna variedad flotante puede llegar a los 6m. Los entrenudos maduros son huecos y su longitud y grosor son variables, siendo más cortos y gruesos los de la parte basal; sus paredes se van endureciendo con el desarrollo. Cada nudo tiene una hoja, en cuya axila se encuentra una yema, que puede originar un vástago o hijuelo. El número de hijuelos es variable, dependiendo de la variedad, pero sobre todo de las condiciones edafo-climáticas y de las prácticas de cultivo (siendo la densidad de siembra muy determinante). En general, las variedades de la subespecie *indica* ahíjan más que las de *japonica*.

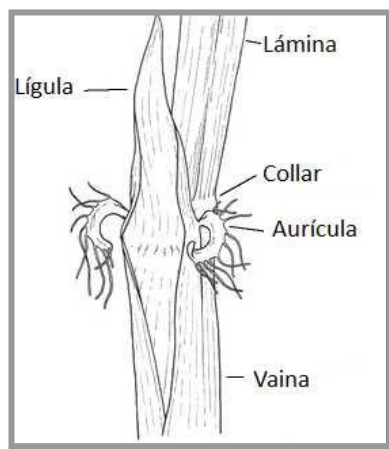


Figura 4. Partes de la hoja de arroz

- En las **hojas**, que se sitúan alternas a lo largo del tallo, abrazándolo, se distingue la vaina, el limbo o lámina, la lígula y las aurículas (Figura 4). En algunas variedades las hojas son ásperas debido a la presencia de “pelos” cortos y duros; en otras son glabras (sin pelos, lisas). Las variedades con las hojas erectas permiten una mejor penetración de la luz sobre la planta (menor sombreado), especialmente en la parte inferior, con el consiguiente aumento de la actividad fotosintética. También se ven menos afectadas por enfermedades criptogámicas, ya que al permitir una mejor aireación, hay una menor retención de rocío y humedad ambiental en las hojas. La última hoja de cada vástago se denomina hoja bandera y su vaina envuelve el cuello de la panícula. La hoja bandera y la inmediatamente anterior son determinantes para la formación de la panícula y el

llenado de los granos. Según avanza el ciclo vegetativo, las primeras hojas en desarrollarse (hojas basales) van secándose, de forma que en la floración suelen quedar sólo entre 5 y 6 hojas verdes. Se considera un carácter favorable que las hojas permanezcan verdes el mayor tiempo posible (senescencia tardía), a fin de prolongar la actividad fotosintética.

- El **sistema radicular primario** del arroz está constituido por la raíz embrionaria (radícula) y una corona de raíces seminales que tienen como principal función el anclaje de la plántula; se trata de un sistema muy superficial y de carácter temporal. Al inicio del ahijamiento, el sistema radicular primario es sustituido por el **sistema radicular secundario**, constituido por raíces adventicias que se forman a partir de los nudos inferiores de los tallos jóvenes; estas raíces son más gruesas y fibrosas, más profundas y ramificadas, y de mayor capacidad absorbente. Algunos nudos superiores pueden a veces emitir pequeñas raíces aéreas, ocultas tras las vainas foliares. El sistema radicular alcanza su máximo desarrollo al final del ahijamiento, cesando de absorber nutrientes cuando el grano se encuentra en estado lechoso. Una particularidad de las raíces de arroz es que están adaptadas a los ambientes saturados de agua (sin aireación). Esto se debe a que poseen canalículos (espacios intercelulares aeríferos), que aseguran el aporte de oxígeno desde la parte aérea de la planta (Osca, 2001).

- La **inflorescencia** del arroz, como en el resto de cereales, tiene como elemento básico la espiguilla, formada por una o varias flores o espículas, que se articulan en panículas (Figura 5). La longitud y densidad (número de flores o granos por unidad de longitud) de la panícula difieren considerablemente según variedades desde 50 a 300 espiguillas por panícula. En el momento de la floración la panícula permanece erecta, y posteriormente adopta un porte más o menos colgante, en función de la flexibilidad del raquis y del peso de los granos maduros. Sus flores son hermafroditas, con 6 estambres y un ovario con dos estigmas plumosos. En la base de la flor existen dos pequeñas estructuras casi transparentes, las lodículas, cuya hidratación provoca la antesis o apertura de la flor. Todos estos órganos están encerrados dentro de dos brácteas convexas (la lemma y la pálea) denominadas glumillas. En algunas variedades, el nervio central de la lemma se prolonga en una arista más o menos larga. Las dos glumillas se unen en el ápice de la flor, cuya coloración también difiere según variedades. La coloración y la pilosidad de las glumillas son también caracteres varietales diferenciales. En la base de la espiguilla se encuentran otras dos brácteas de

menor tamaño, denominadas glumas, quedando todas las partes florales por encima de ellas.

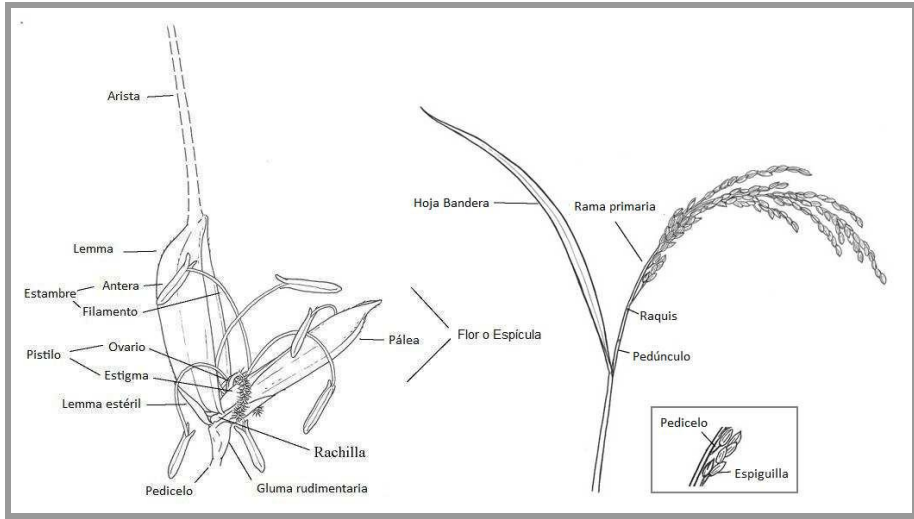


Figura 5. Esquema de la flor o espícula y de la inflorescencia del arroz (la panícula).

• Cada una de estas espículas, cuando es fecundada y madura, da lugar al **fruto** o grano de arroz, constituido por una semilla recubierta por las dos glumillas soldadas o cascarilla. Para desprender la cascarilla del grano de arroz ya formado se utilizan medios mecánicos. La semilla de arroz propiamente dicha, o cariósipide, consta de un endospermo y un embrión, y está rodeada por varias láminas muy finas: el pericarpio (que es la capa más externa de la cariósipide y suele tener un color marrón claro), los tegumentos seminales (situados por debajo del pericarpio), y la capa de aleurona, de naturaleza proteica (Figura 6). La cariósipide

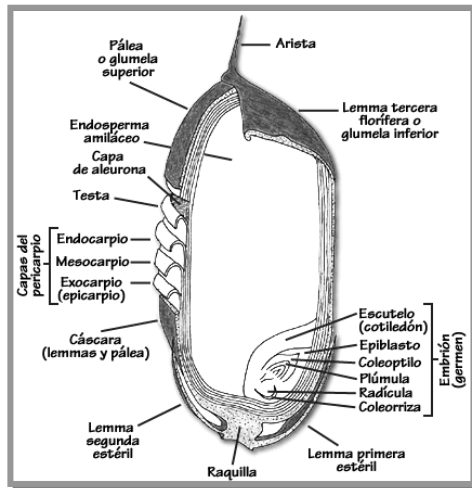


Figura 6. Esquema de una sección longitudinal del grano de arroz.

se comercializa como arroz cargo o integral y es muy rica en fibra. En el molino, el arroz descascarado es sometido al blanqueado o pulido para la eliminación del pericarpio, los tegumentos seminales, la aleurona y el embrión (germen), dando lugar al arroz blanqueado, que corresponde al albumen o endospermo y es el órgano de reserva de la semilla, compuesto por gránulos de almidón envueltos en una matriz proteica y conteniendo, además, azúcares, grasa y fibra cruda. El aspecto que tiene el endospermo puede ser translúcido o de fractura vítrea (denominado grano cristalino), opaco o de fractura yesosa (o grano yesoso), o bien puede ser de fractura mixta, con una parte del endospermo vítreo (normalmente la exterior) y una parte opaca (interior) a la que se denomina perla, por lo que se conoce a estos granos como granos perlados (Osca, 2001), siendo el tamaño de esta perla variable.

1.3.2. Ciclo vegetativo

El ciclo completo de la planta de arroz se puede dividir en tres etapas: la etapa vegetativa, desde la germinación de la semilla hasta el final del ahijamiento; la etapa reproductiva, desde el inicio de la formación de la panícula hasta la floración y fecundación de las flores; y la etapa de maduración, que abarca desde la fecundación de las flores hasta la maduración completa del grano (Aguilar, 2001; Osca, 2001).

En las fases iniciales de la etapa vegetativa, el grano absorbe agua y germina, produciendo las primeras raíces y hojas; en este punto la principal fuente de alimento proviene de las reservas acumuladas en el endospermo. A partir de la cuarta hoja comienza la actividad fotosintética, el desarrollo de las raíces adventicias y el inicio del ahijamiento. El primero de los hijuelos brota de la yema situada en la axila de la segunda hoja. De las yemas de las hojas posteriores surgirán, progresivamente, nuevos hijuelos. Los hijuelos que nacen directamente del primer tallo se denominan primarios, y están dispuestos, como las hojas, de forma alterna. En condiciones idóneas, este fenómeno puede repetirse en yemas de los hijuelos primarios, dando lugar a hijuelos secundarios y éstos, a su vez, a hijuelos terciarios.

El inicio de la etapa reproductiva está determinado por la variedad, la temperatura y, en menor grado, por la intensidad y la duración diaria de la luz solar (fotoperiodo). El inicio de la formación de la panícula ocurre antes en los hijuelos primarios. El primordio o embrión panicular está situado justo por encima del nivel

del suelo, rodeado por las hojas. Pasados unos días, la panícula alcanza una longitud suficiente para ser observada a simple vista (unos 2 mm); una semana después, la panícula alcanza los 2 cm. En esta etapa queda determinado el número de espiguillas por panícula y tiene lugar el alargamiento de los entrenudos, especialmente de los superiores, que continúa hasta la floración. Este proceso se conoce como “encañado”. Según la panícula avanza por el tallo, va aumentando de tamaño y hace que la vaina de la hoja bandera se hinche, momento que se conoce como “embuchamiento”, “ventrellat”, “bota” o “embotado”. A continuación, la panícula sale de la vaina de la hoja bandera (espigado). Desde que emerge el extremo de la panícula hasta que toda la panícula está fuera hay un intervalo de siete a ocho días, aunque puede alargarse en algunas variedades. El estado fenológico conocido como comienzo de la floración es en realidad la antesis, que tiene lugar cuando las anteras de la parte alta de la panícula son visibles y se abren. La panícula completa florece, por término medio, en siete u ocho días, empezando en la parte alta hacia abajo y de fuera hacia adentro. La apertura de las flores suele ocurrir entre las 11 y las 14h, permaneciendo abiertas como máximo un par de horas. La lemma y la pálea se abren, los estambres se alargan, las anteras salen fuera de la flor y desprenden sus granos de polen. Pero generalmente antes, algunos de los granos de polen de la propia flor, liberados ya, caen sobre el estigma, y el óvulo es fecundado antes de que pueda introducirse polen extraño (es lo que se conoce como cleistogamia). De este modo, el porcentaje de autofecundación suele alcanzar el 99%, aunque no se trata de una especie autógena estricta. El grano de polen tarda otras dos horas en completar la fecundación. Después de la fecundación, las glumillas se cierran, encajando sus bordes, que quedan soldados en cuatro o cinco días.

En la etapa de maduración, el grano va llenándose: los carbohidratos o azúcares son transportados desde otras partes de la planta (hojas y tallos) hasta el grano en desarrollo, en un fenómeno denominado translocación de nutrientes, que va acompañado por la senescencia de las hojas que se vuelven amarillas en orden ascendente. En algunas variedades, sin embargo, las hojas superiores pueden continuar verdes incluso durante la cosecha. El desarrollo del grano es un proceso continuo, pasando por estados denominados acuoso, lechoso, pastoso y duro, cuya textura evoluciona según se va perdiendo humedad. El grano está fisiológicamente maduro cuando su contenido en humedad desciende hasta el 30% (pastoso-duro) aproximadamente, momento en que alcanza su máximo peso seco. La cosecha tiene lugar unos días más tarde, cuando el grano está duro y su

humedad se encuentra entre el 18 y 22% según variedades. La cosecha en el momento óptimo de humedad garantiza un mayor rendimiento industrial.

1.3.3. Condiciones y técnicas de cultivo

El arroz es un cultivo muy exigente, tanto en temperatura como en agua. Para su cultivo, la temperatura debe ser alta y constante, ya que se resiente mucho de las grandes oscilaciones térmicas. En las regiones ecuatoriales, con temperaturas constantemente altas, se llegan a realizar hasta 2 ó 3 cosechas al año con variedades de ciclo corto. En los países de climas templados, como el nuestro, su cultivo sólo se lleva a cabo en primavera-verano. La temperatura mínima de germinación es de 12°C, y para el encañado y floración se requieren temperaturas mínimas del orden de 23-25°C (Osca, 2001). Respecto al agua, puede cultivarse arroz de secano (arroz de las tierras altas) en zonas donde se registren precipitaciones regulares durante el cultivo de unos 200 mm/mes durante al menos 3 ó 4 meses. En España, donde las precipitaciones son insuficientes, únicamente se cultiva arroz en terrenos regados por inundación. El agua actúa también como termorregulador.

Según el ciclo de maduración (tiempo que transcurre desde la siembra hasta la cosecha) En España se pueden clasificar las variedades en cuatro grupos: ciclo muy corto o muy temprano (125-135 días), ciclo corto o temprano (135-145 días), ciclo medio (145-155 días) y ciclo largo o tardío (más de 155 días) (Aguilar, 2001). Las variedades muy tempranas o tempranas son poco sensibles o insensibles al fotoperiodo, mientras que las de ciclo medio y sobre todo las tardías suelen necesitar un acortamiento del día para florecer. Las variedades tempranas tienen, pues, un ciclo más estable: el adelanto o retraso de la fecha de siembra afectará más a la duración del ciclo de las variedades más tardías. En regiones frías suelen utilizarse variedades de ciclo muy corto y tolerantes a las bajas temperaturas, porque este tipo de variedades pueden ser sembradas tarde. En cambio, las variedades muy tempranas en zonas de clima más cálido, podrían madurar cuando las temperaturas aún fueran excesivamente altas, lo que causaría androesterilidad, disminuyendo la producción y la calidad del grano. En España, las variedades que se utilizan tienen una sensibilidad al fotoperiodo muy atenuada, floreciendo incluso en regímenes de 15 horas diarias de luz (Osca, 2001).

Las técnicas de cultivo, sobre todo las de preparación del terreno y aporte de abonos, plaguicidas e insecticidas, varían en función de las necesidades (y

posibilidades) de cada zona. Del mismo modo, el periodo de cada una de estas labores puede oscilar según las condiciones climáticas, la duración del ciclo de la variedad cultivada o la disponibilidad de la maquinaria necesaria. La figura 7 representa un ciclo de cultivo típico del arrozal valenciano (López Campos y col., 1975).

El cultivo comienza con las labores preparatorias (Fase 1 de la figura 7). Entre ellas, se puede citar el "fangueo", que se efectúa entre los meses de diciembre y enero, dependiendo de la zona de cultivo, cuando los campos están inundados con un bajo nivel de agua. Se remueve todo el terreno hasta una profundidad de 10-15 cm, de forma que se mezclan todos los rastrojos y los restos del cultivo de la campaña anterior con el barro, mediante unas ruedas de hierro que sustituyen a las traseras normales del tractor. Una vez los campos se han secado, se realiza el arado en dos fases diferenciadas; una primera pasada rápida con el cultivador (de "ganchos"), o con el rotocultivador ("rotovator"), para que la tierra acabe de secarse; una segunda pasada, para fragmentar los agregados que se forman en este terreno arcilloso y dejar la tierra suelta para el abonado.

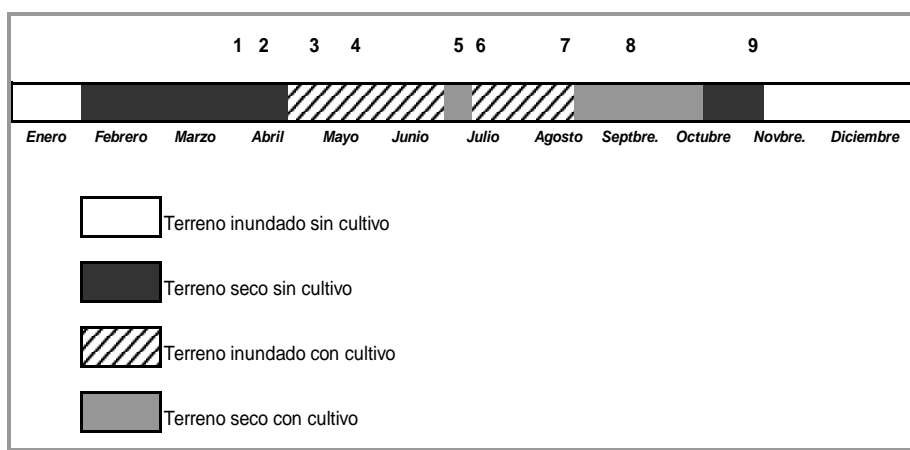


Figura 7. Ciclo de cultivo del arrozal valenciano. Los números se refieren a las labores realizadas: (1) labores preparatorias, (2) drenaje, arado y nivelado del terreno, (3) siembra, (4) transplante y primer tratamiento contra malas hierbas, (5) secado, (6) segundo tratamiento contra malas hierbas y abonado, (7) secado, (8) cosecha, (9) limpieza del terreno e inundación.

Antes de la inundación pre-cultivo (2), se realizan labores de drenaje, arado, nivelado del terreno, etc. Cada dos o tres años las parcelas deben ser niveladas, para lo que en la actualidad se utilizan máquinas con un sistema de rayos láser. La nivelación es muy importante, ya que permite mantener una profundidad de la lámina de agua constante en toda la parcela, ayudando a la emergencia y el desarrollo uniforme de las plantas, al control de las malas hierbas, al drenaje de la parcela, al manejo y la eficiencia del riego. Finalizada esta tarea, el campo queda apisonado y se vuelve a labrar para soltar de nuevo la tierra. Posteriormente, se abona y se hace otra pasada de rotocultivador, dejando la parcela preparada para ser inundada y sembrada. El abonado que se realiza debe ajustarse a la fertilidad de la zona de cultivo. Las necesidades medias de nutrientes/t de producción de arroz son equivalentes a 22Kg de N, 11Kg de P₂O₅ y 15Kg de K₂O.

A finales del mes de abril se inundan los campos a una altura media de 10 cm sobre el terreno y se siembra de forma manual o mecánica a razón de 150-180 semillas/ha (3). Tras la emergencia se lleva a cabo un transplante (4) para rellenar zonas de baja densidad de plantas, bien por pobre nascencia o bien por arrastre de la semilla en las zonas de entrada de agua en la parcela (boqueras). En ese momento (entre trece y quince días después de la siembra), se realiza el primer tratamiento contra las malas hierbas, principalmente gramíneas, entre ellas *Echinochloa*. En el mes de junio, a lo largo de unos diez días, se realiza la desecación de arraigo o "aixugó" (5), que tiene como finalidad la eliminación de las algas y malas hierbas y favorece el afianzamiento de las raíces al terreno. Durante este periodo se realiza un segundo tratamiento herbicida contra ciperáceas y especies de hoja ancha, así como la aplicación de abonos de cobertera si procede (6). Después de estas labores se vuelve a inundar el arrozal y se inician las escardas manuales, que complementan la escarda química y pueden continuar durante todo el cultivo, si fuera necesario.

Hacia finales de agosto, cuando los granos de arroz se han llenado, se corta el suministro de agua (7), para que los campos vayan secándose y el arroz acabe de madurar. La madurez del arroz se puede probar por la dureza del grano al diente, que debe ofrecer resistencia suficiente que impida cortarlo. Pero también se recurre con frecuencia a medidores de humedad.

En el mes de septiembre, generalmente, se inicia la cosecha del arroz, salvo en variedades muy tempranas (8). El momento óptimo de la recolección se produce cuando la panícula del arroz alcanza su madurez fisiológica (esto es, cuando el 95% de los granos estén maduros) y la humedad esté entre el 18 y 22%. El arroz cosechado se lleva a secaderos y se almacena en silos hasta que es llevado al molino para iniciar su procesamiento industrial.

Una vez cosechado todo el arroz, se eliminan los rastrojos (paja), bien retirándolos, bien quemándolos, y se vuelve a inundar el arrozal hasta la nueva campaña (9).

1.3.4. Enemigos del cultivo de arroz

Malas hierbas

Las malas hierbas en el arrozal compiten con el cultivo por el espacio, la luz y los nutrientes, pudiendo provocar una disminución en la producción hasta del 50%. Además, ocasionan una merma de la calidad, ya que en la cosecha no sólo se recolecta el grano de arroz, sino también la semilla de muchas de las malas hierbas (Osca, 2001). Otros problemas que provocan son el incremento de los costes de producción, recolección, secado y procesamiento industrial y, además, hospedan y son foco de infección de numerosas plagas (*Eusarcoris inconspicuus*, *Mythimna unipuncta*, etc.) y fuente de inóculo de diversas enfermedades (*Magnaporthe grisea*, *Bipolaris oryzae*, *Sclerotium oryzae*, etc.) (Aguilar, 2001).

En la tabla 4 se muestran las principales malas hierbas del arroz. Según su hábito de crecimiento en el arrozal, se encuentran especies emergentes, flotantes y sumergidas. Las plantas emergentes están adaptadas a vivir en terrenos inundados e incluso fuera del agua, siempre que se disponga de elevada humedad. Destacan *Echinochloa spp.*, *Scirpus maritimus* L., *Cyperus difformis* L., diversas especies de hoja ancha como *Alisma plantago-aquatica* L., *Alisma lanceolatum* With., *Ammannia spp.*, *Bergia capensis* L., y el también denominado arroz rojo, que pertenece a la misma especie que el arroz cultivado (Aguilar, 2001; Osca, 2001). Entre las flotantes destacan varias especies de lentejas de agua (*Lemna spp.*), que se encuentran libremente en la superficie, aunque no compiten significativamente con el arroz. Las hierbas sumergidas tampoco suelen perjudicar seriamente el desarrollo del cultivo.

| Hoja estrecha | | Nombre Científico | Nombre Común |
|----------------------|----------------|---|--|
| GRAMÍNEAS | | <i>Echinochloa spp.</i> <i>Paspalum distichum</i> <i>Oryza sativa</i> | cola, serreig, mill, panissola grama de agua arroz salvaje, granos rojos, rebordonit |
| CIPERÁCEAS | <i>Scirpus</i> | <i>Scirpus maritimus</i> <i>Scirpus mucronatus</i> <i>Scirpus supinus</i> | castañuela, juncia, jonça, chufa, serrada mayor castañuela de semilla, puñalera, punxó, serrada menor junco, borró, borronet |
| | <i>Cyperus</i> | <i>Cyperus diformis</i> | junquillo, tiña, juncia |
| TIFÁCEAS | | <i>Typha angustifolia</i> | enea, anea, bova, espadaña, paja real |
| Hoja ancha | | Nombre Científico | Nombre Común |
| ALISMATÁCEAS | | <i>Alisma plantago</i> | coleta, col, llengua, bovina, llantén de agua |
| LITRÁCEAS | | <i>Ammania coccinea</i> | arbolito, amania |
| ELATINÁCEAS | | <i>Bergia capensis</i> | tomatito, alfabegueta |
| LEMNÁCEAS | | <i>Lemna gibba</i> | lenteja de agua, pà de granota |
| PONTERIDÁCEAS | | <i>Heteranthera limosa</i> , <i>Heteranthera reniformis</i> | heteranthera |

Tabla 4. Principales malas hierbas del arroz.

Muchas de estas plantas se multiplican por semillas y otras lo hacen vegetativamente, mediante estolones, rizomas o tubérculos, lo que dificulta su eliminación total de un campo infestado. Además, muchas de ellas tienen una gran facilidad de desgrane, que incrementa su capacidad de supervivencia y competitividad. Las personas, los pájaros, el ganado y el estiércol también son medios de transporte e infestación. Un control eficaz de las malas hierbas combina métodos preventivos, culturales y químicos. Entre los métodos preventivos están el uso de semilla certificada, el control de la maquinaria que se comparte en diferentes parcelas, la limpieza de los canales de riego y de desagüe, de lindes y carriles. Las prácticas culturales pretenden dejar al arroz en situación ventajosa frente a sus competidoras; adecuar el momento de la siembra y el abonado, aumentar o disminuir la lámina de agua y escardar manualmente. Finalmente, se puede recurrir a la aplicación de herbicidas. En el caso del arrozal, al tratarse de un cultivo frecuentemente asociado a zonas húmedas sometidas a un régimen de protección medioambiental, hay que tener en cuenta que los tratamientos deben ser los autorizados.

En este apartado se han incluido también las algas, que aunque no son malas hierbas propiamente dichas, también producen daños de tipo competitivo, mecánico y fisiológico. Las algas filamentosas son las más problemáticas, ya que pueden obstaculizar e incluso atascar los cursos del agua y, sobre todo, entorpecer el enraizamiento, emergencia y desarrollo de las plantas de arroz. La mayor parte del inóculo (trozos de filamento o esporas) proviene del suelo del

arrozal, siendo de menor importancia el aportado por el agua de riego. En los casos de gran infestación, el mejor sistema de control es el secado del campo durante tres o cuatro días (Aguilar, 2001).

Plagas

El arrozal es un excelente hábitat para insectos, crustáceos, pequeños moluscos, aves acuáticas (que producen pérdidas durante la germinación y la maduración) y roedores. Dentro de este grupo cabe destacar al cangrejo rojo americano, *Procambarus clarkii*, que al excavar canales en el terreno puede desecar campos si excava las lindes, e incluso provocar la caída de las plantas por pérdida de superficie de anclaje. Sólo algunas especies de artrópodos atacan a la planta, causándole daños durante determinadas etapas del desarrollo. En cambio, otras especies pueden ser muy beneficiosas, como los insectos auxiliares, excelentes para el control biológico de otros perjudiciales (Aguilar, 2001). En España sólo tienen importancia los ataques de dos insectos en zonas geográficas distintas: *Chilo supressalis* (“cucat”) en las zonas levantinas (Valencia y Tarragona) y *Eusarcosis inconspicuus* (“chinche de la espiga”) en las zonas sur-occidentales (Sevilla y Badajoz). (Osca, 2001).

Chilo supressalis (antes llamado *Chilo simplex*), de origen asiático, es un lepidóptero conocido con el nombre de “cucat”, “palometa” o “barrenador del arroz”. Únicamente causa daños en estado larvario, pero ataca al arroz desde el estado de plántula a la madurez, alimentándose en el interior de los tallos, lo que hace que las panículas se sequen y no se formen los granos de arroz. Las plantas afectadas pueden reconocerse fácilmente por el aspecto blanquecino y erguido de las inflorescencias, que se desprenden al tirar de ellas. Las vainas tiernas pueden presentar manchas amarillas, rompiéndose los tallos con facilidad. El control del *Chilo* es normalmente objeto de campañas unificadas y dirigidas por entidades públicas, en las que prevalece la lucha biológica. Actualmente se utilizan diferentes métodos: bien la suelta de parásitos naturales, por ejemplo de los géneros *Trichogramma* y *Apanteles*, o bien el empleo de feromonas; en este segundo caso se emplean dos estrategias: el trapeo masivo (que elimina los machos mediante su captura en embudos adecuados, de forma que las hembras queden sin fecundar), y la confusión sexual (basada en la disrupción del comportamiento sexual de los machos, desorientados por la elevada concentración de vapores de feromonas sintéticas en la atmósfera próxima al

cultivo). Este último método es el utilizado en el arrozal valenciano, donde existe un sistema de alerta e instalación de estaquillas impregnadas de feromonas por parte de la CAPA (Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación).

Durante el desarrollo vegetativo y maduración, además de *Chilo*, existen otras plagas que atacan a la planta de arroz, aunque su incidencia es poco significativa (Osca, 2001; Tinarelli, 1989):

- Rosquilla de arroz: *Mythima unipunctata*, que devora las hojas, reduciendo la superficie fotosintética.
- Taladro del maíz: *Sesamia nonagroides*, cuya larva se alimenta del interior de los tallos de la planta.
- Quironómidos: tanto los del género *Chironomus* como los del género *Cricotopus* que producen daños al arroz en estado larvario sobre todo en los inicios de la germinación, y cuando la plántula apenas cuenta con una o dos hojas; pudiendo causar verdaderos problemas de germinación en aquellas zonas en las que la presencia de arroz salvaje obliga a realizar tratamiento químicos o mecánicos, de forma que la siembra de arroz se retrasa y cuando se realiza la población de los quironómidos es muy grande, como ocurre en el Delta del Ebro.
- Tijeretas: las pupas de *Ephydra riparia* se fijan en las raicillas y producen estrangulamientos que dificultan la circulación de la savia, perjudicando el enraizamiento y desarrollo de la plántula.
- Nemátodos: se alimentan de forma ectoparásita del meristemo apical del tallo y penetran en las espiguillas antes de la antesis, alimentándose de los ovarios y estambres.
- Pulgones: atacan a las zonas verdes de la planta, succionando la savia y provocando desecación y deformación de la zona atacada.

Enfermedades

La enfermedad conocida en España como “fallada”, “mal de cuello”, o Pyriculariosis, causada por el hongo *Magnaporthe oryzae*, puede provocar pérdidas de hasta el 50-80% de la cosecha a nivel mundial. En España, la caída

en la producción no suele superar el 5-25%, aunque las pérdidas pueden ser muy superiores en ataques severos en algunas parcelas. Este hongo puede afectar a todas las partes aéreas de la planta de arroz: hoja, tallos, panícula y su cuello. Las pérdidas dependen de varios factores: la variedad sembrada, la etapa del desarrollo en que se presente la infección y ciertas variables ambientales como la humedad, la temperatura y el periodo de rocío. Para su control se usan variedades resistentes y prácticas culturales (disminución de la densidad de siembra y de la dosis de abonado nitrogenado; el cultivo en zonas ambientalmente sensibles, como deltas y humedales, implica limitaciones para el tratamiento químico) (Osca, 2001).

Otros hongos que afectan al arrozal, aunque causando daños de menor consideración, son *Bipolaris oryzae* (hasta recientemente llamado *Helminthosporium oryzae*) que ocasiona lesiones en hoja, tallos y panícula; *Fusarium moniliforme*, que causa la podredumbre del tallo; y *Sclerotium oryzae*, que ocasiona el mal de esclerocio.

Una cepa del “Barley Yellow dwarf virus (BYDV)” causa el “enrojat” del arroz, que reduce el crecimiento y ahijamiento, con muerte o no de la planta. La incidencia de esta enfermedad en la actualidad es escasa, al realizar siembra en lugar de transplante (Carreres, 2003).

A nivel mundial existen otras enfermedades importantes, principalmente la causada por la bacteria *Xantomonas oryzae*, que aún no ha afectado a las zonas de cultivo europeas.

Otros factores limitantes del cultivo

A escala mundial, los principales factores que limitan la producción de arroz son: la reducción de la superficie de cultivo debido a la expansión urbana, el desarrollo industrial y el aumento del terreno dedicado a la ganadería; las restricciones de agua por el aumento de su demanda para otros usos; y los problemas de toxicidad y salinidad, por la sobreexplotación de acuíferos, el abuso de productos químicos que, en ocasiones, se vierten en las aguas de riego, y la intrusión del agua de mar por el descenso del nivel de agua dulce.

En España, la superficie que se dedica al cultivo de arroz es variable en función de la disponibilidad y la calidad del agua de riego. En algunas zonas

arroceras no se siembra toda la superficie disponible por problemas de abastecimiento de agua y de salinización del suelo, como ocurre en la zona sur, que en las últimas campañas han visto reducida su superficie cultivada prácticamente a la mitad. Además, la mayoría de los arrozales se sitúan en zonas protegidas y en espacios naturales de gran interés ecológico; en España los encontramos en los parques naturales de la Albufera de Valencia, el Delta del Ebro y Doñana; la mayor parte de estas zonas tienen protección medioambiental y en ellas predomina el cultivo integrado. En estas zonas el arrozal permanece inundado, durante periodos prolongados a lo largo del año; el cultivo del arroz juega un papel fundamental en el equilibrio medioambiental, ya que el arrozal constituye una reserva para la alimentación y la cría de las aves acuáticas. Actualmente existe legislación adaptada a las zonas arroceras protegidas que priorizan la sustitución y reducción de tratamientos químicos para la lucha contra las plagas, con la finalidad de proteger las aves y las especies acuáticas, así como preservar la calidad del agua, y evitar la contaminación de los ecosistemas limítrofes.

Por otra parte, el encamado es uno de los principales problemas que presentan la mayoría de los cereales y algunas otras especies. Este accidente mecánico puede llegar a producir graves pérdidas de producción, tanto en la cantidad como en la calidad, como consecuencia del doblado, o tumbado, de las plantas. Más adelante se dedicará un apartado a este problema, dado que la resistencia al encamado es uno de los temas objeto de esta Tesis.

1.4. El arroz como planta modelo para estudios genéticos

El arroz se considera como planta modelo para estudios genéticos y genómicos de las especies cultivadas, especialmente de los cereales, por diversas razones:

➤ El tamaño del genoma del arroz ($n=12$; 430Mb) es pequeño comparado con el de otros cereales (sorgo $n=10$, 800Mb; maíz $n=10$, 2400Mb; trigo $n=21$ 16000Mb). Diversos estudios, como los de Van Deynze y *col.* (1995a,b) y Devos y Gale (1997), mostraron con marcadores moleculares que extensas regiones del genoma de arroz contienen secuencias cuyo orden se encuentra altamente conservado en los cereales con genomas mayores. Basándose en esto, los genomas de otros cereales pueden describirse como combinaciones de “bloques

de ligamiento de genes de arroz”. Este fenómeno se denomina colinearidad o sintenia, y se debe a que los cereales comparten un ancestro común, empezando a diversificarse hace unos 50-70 millones de años (Kellogg, 2001). La existencia de genes homólogos hace posible que la información obtenida en arroz sea transferible a otras especies.

➤ Se dispone de la secuencia completa del genoma de dos cultivares de arroz representativos de las dos subespecies *indica* y *japonica* (Goff y col., 2002; Yu y col., 2002a).

➤ Se cuenta con miles de ESTs (expressed sequence tags), secuencias de cDNAs (se pueden consultar en la página web de Gramene, www.gramene.org, con más de 20 millones de entradas; y en la base de datos de Rice EST (REDB), <http://bioinfo.hzau.edu.cn/>) y chips de ADN (Lan y col., 2004).

➤ Hay disponibles gran cantidad de marcadores moleculares, que facilitan los estudios genéticos y ayudan a acelerar los programas tradicionales de mejora.

➤ Existen un gran número de bancos de germoplasma en los que se conserva material genético de variedades tanto cultivadas como silvestres y de poblaciones que se van mapeando, líneas de sustitución e introgresión, y mutantes genéticos (líneas de pérdida y ganancia de función) (Jeon y col., 2000; Leung y col., 2001; Xue y Xu, 2002; An y col., 2003; Hirochika, 2003; Hirochika y col., 2004; Kolesnik y col., 2004; Ryu y col., 2004; Sallaud y col., 2004).

➤ Permite el uso de técnicas de cultivo de tejidos como el rescate de embriones y el cultivo de anteras, de forma que es posible aumentar el número de cruzamientos varietales y estabilizar más rápidamente las nuevas líneas.

➤ Hay técnicas de transformación genética muy efectivas en el arroz (Hiei y col., 1994; Komari y col., 1998).

➤ Es posible el acceso a diversas bases de datos que facilitan la introducción, búsqueda y análisis de la información sobre el arroz y otros cereales (entre otras, www.gramene.org; www.iris.irri.org, www.icis.cgiar.org, www.rgp.dna.affrc.go.jp/index.html, www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST).

La caracterización del genoma de la planta de arroz y de los genes que contiene ayudará a los genetistas y a los biólogos moleculares a entender la biología de los cereales en general, y del arroz en particular, y a los mejoradores en su objetivo de obtener nuevos productos (Xu y *col.*, 2005). Disponer de la secuencia del genoma del arroz proporciona un índice completo de las secuencias de los genes, pero no informa sobre cuáles son las funciones de éstos y cómo interactúan para dar lugar al fenotipo buscado, que es en definitiva el objetivo final de la mejora. Sin embargo, este avance está permitiendo acelerar el conocimiento del control genético de muchos caracteres de interés, frecuentemente de naturaleza poligénica, tanto en el número de genes implicados, como en su posición en el genoma (en incluso su identidad en algunos casos), y en el efecto de cada uno de ellos, y facilitará nuevas estrategias de mejora, no sólo en arroz, sino en el resto de cereales.

1.5. Mejora de caracteres cuantitativos en arroz

La generación de nuevas variedades para aumentar de la producción y abaratar las prácticas agrícolas actuales son temas de interés prioritario para la agricultura, y desde hace años se están desarrollando y perfeccionando estrategias de mejora para la obtención de variedades. No obstante, el crecimiento y la productividad de una variedad determinada difieren enormemente dependiendo de factores como el clima y las técnicas de cultivo: variedades de alto rendimiento en países de Asia muestran escasa productividad en la zona mediterránea, donde existen variedades adaptadas que resultan mucho más eficaces, y viceversa. La mejora llevada a cabo en la propia región incrementa la probabilidad de obtener variedades bien adaptadas a la misma, al incluir sus particulares factores ambientales y culturales a lo largo de todo el proceso selectivo. Esto hace que la mejora de nuevas variedades y su optimización tienda a realizarse de forma local. Sin embargo, hay algunas excepciones ya que desde la revolución verde hasta mediados de la década de 1980, las variedades *indica* obtenidas por el IRRI se han cultivado en varios países asiáticos y millones de hectáreas (Khush y Virk, 2005); asimismo, variedades *japonica templado* californianas (como L-202) y australianas (como Illabong) se han cultivado con éxito en Andalucía (bajo el nombre de Thaibonnet y Puntal, respectivamente), y variedades españolas se han cultivado en Italia (Bahía) o en Grecia (Sequal).

En el caso del arroz ha existido una evolución clara en los objetivos de mejora hacia un tipo de planta de talla baja y hojas erectas, especialmente con hoja bandera sobresaliendo por encima de la panícula, para mejorar la eficiencia fotosintética e incrementar la productividad. También se busca resistencia a enfermedades y, recientemente, al estrés hídrico. Por otro lado, el mercado de destino también influye en los planes de mejora: por ejemplo, en el caso del tipo de grano y la presencia o no de perla.

Los procesos tradicionales de mejora del arroz combinan ciclos de cruzamiento y selección. El objetivo común es reunir en un solo genotipo las mejores características de las variedades cruzadas o bien la suma de ciertos caracteres determinados por genes aditivos. El método genealógico (también llamado de pedigree) es el más generalizado en los proyectos de mejora de arroz y el de mejores resultados hasta ahora, aunque también en algunos programas se realiza selección masal y recurrente. El método genealógico parte de un cruzamiento entre variedades o líneas puras (hibridación), para el que se ha de realizar una castración del progenitor femenino mediante la emasculación o la inutilización de su polen, y una polinización con el polen del progenitor masculino, obteniendo la generación F1, homogénea. La autofecundación de la F1 da lugar a plantas F2, una población de plantas que segregan en los caracteres en que difieren los parentales y, en ocasiones, en algunos en que los parentales no muestran diferencias. La selección de las plantas F2 a partir de ciertos criterios (altura, ciclo, longitud de grano, etc.) y su autofecundación da lugar a líneas F3. Continúan los ciclos de autofecundación y selección, pero a partir de este punto se seleccionan líneas y plantas, hasta alcanzar el suficiente grado de homocigosis dentro de una línea para poder considerarla una variedad. Una vez comprobada su homogeneidad, estabilidad y valor agronómico, se procede a su registro y comercialización. Esta metodología tiene el inconveniente de necesitar numerosas generaciones para obtener líneas suficientemente fijadas que cumplan los mínimos requisitos de homogeneidad exigidos por el Registro Oficial de Variedades (en el caso de España requiere al menos 10-12 años).

Una manera de acelerar la obtención de líneas puras es la generación de líneas Doble Haploides (DH), que se suelen obtener a partir del cultivo de anteras "*in vitro*". Esta técnica, no exenta de complicaciones, ha dado lugar a numerosas variedades en los últimos años; Fang, en 1991, contabilizó ya más de 100 variedades de arroz obtenidas mediante esta técnica.

Una alternativa a la obtención de líneas puras, que basan su eficacia en la suma y combinación epistática de genes de efectos aditivos favorables, es explotar el denominado “vigor híbrido” (o heterosis) que se da cuando un gran número de genes está en heterocigosis. Las primeras variedades híbridas de arroz manifestaron aumentos de producción de entre un 10 y un 30% (Chakraborty, 2001; Nanda y Virmani, 2000), aunque en China se han obtenido híbridos de segunda fase, en los que los incrementos de producción superaron el 40%, y en la actualidad se está trabajando en el que se denomina “arroz superhíbrido”, con el que se espera superar a los anteriores (Cheng y *col.*, 2007). Lin y Yuan (1980) comprobaron que las variedades híbridas de arroz muestran un crecimiento vigoroso, un aumento de productividad por unidad de tiempo, mayor penetración de las raíces, mejora de la resistencia al encamado y tolerancia a la sequía; mientras que Laza y *col.* (2003) demostraron que el aumento en la producción de las variedades híbridas es debido, en parte, a una translocación más eficiente de los carbohidratos desde el tallo al grano. Sin embargo, la utilización de variedades híbridas en arroz no es tan habitual como en cultivos tales como el maíz, ya que el incremento de producción no es tan notable; además, la producción de este tipo de semilla es muy costosa y el agricultor está obligado a comprar la semilla híbrida cada año si quiere mantener el rendimiento. Su utilización se limita actualmente a algunos países, principalmente China y EEUU, que está realizando abundantes esfuerzos en ese sentido.

Como ya se ha comentado, la mejora convencional se ha basado fundamentalmente en cruzamientos y selección de los mejores fenotipos. Mediante los cruzamientos se combinan las mejores características de las variedades parentales, al tiempo que se aumenta la variabilidad. Mediante la selección se van fijando los caracteres de interés, ya que la frecuencia de los alelos favorables en una población aumenta con cada ciclo de selección. Durante muchos años se ha conseguido fijar muchos caracteres de interés agronómico, resistencia a enfermedades y a estreses ambientales, y se han obtenido infinidad de variedades. Sin embargo, el aumento del potencial de producción y la incorporación de la tolerancia a ciertos estreses abióticos mediante mejora convencional ha resultado difícil (Peng y *col.*, 1999).

A pesar del éxito obtenido por los programas de mejora convencional, esta aproximación tiene una limitación fundamental: se necesitan muchas generaciones de selección para fijar las características de interés, y esto supone una gran

inversión de tiempo, espacio y recursos. La principal causa de esto es que el fenotipo no nos da una medida directa del genotipo de cada individuo, de manera que una selección basada en caracteres observados no garantiza que éstos pasen a la descendencia o se mantengan al cambiar de ambiente, especialmente en el caso de los caracteres cuantitativos. De esta forma algunas plantas pueden tener los alelos de interés y no expresarlos en una generación determinada y, por tanto, no ser seleccionadas; algunos genes de efectos pleiotrópicos también se pueden eliminar en la selección; y a la inversa, la selección para algún carácter de interés puede arrastrar la selección de otro carácter perjudicial que se encuentre ligado a éste. Por ello, la selección de genotipos deseables en caracteres cuantitativos se ve complicada por su naturaleza poligénica, y además, por la influencia, generalmente grande, que sobre ellos tiene el ambiente. Caracteres como la productividad tienen una baja heredabilidad, de modo que su selección fenotípica clásica no es eficiente, al no poder pronosticar con confianza la respuesta en la descendencia.

El proceso de mejora clásico se vería facilitado y acelerado si se pudieran identificar directamente los genes de la planta, en lugar de las características visibles y medibles de la misma (fenotipo), que puede expresar o no (o hacerlo parcialmente) sus genes. La localización de los genes que controlan caracteres de interés agronómico y económico sería de gran ayuda para los mejoradores, y la tecnología de los marcadores moleculares contribuye a hacerla posible. La identificación de QTLs y el uso de marcadores moleculares son herramientas fundamentales para el conocimiento del control genético de los caracteres cuantitativos y, en definitiva, para la mejora. La selección asistida por marcadores (M.A.S.), al actuar sobre el genotipo, permite la selección temprana y la facilita en los caracteres que son genéticamente complejos o difíciles de evaluar, aumentando la eficacia de la selección respecto a la selección fenotípica.

1.5.1. Primera aproximación a la genética cuantitativa

La mejora de plantas depende de la existencia de variabilidad genética, y utiliza la selección para optimizar las plantas cultivadas respecto a caracteres que son de interés para el agricultor o el consumidor. La selección de muchos de estos caracteres como la producción, calidad, o respuesta a algunas enfermedades, se ve dificultada por tratarse de caracteres cuantitativos, cuya variación es continua. Los caracteres cualitativos muestran fenotipos discretos por estar controlados por

uno o muy pocos genes de gran efecto, y su modo de herencia es reconocido comúnmente como “mendeliano”. Por el contrario, los caracteres cuantitativos son el resultado del efecto conjunto de varios genes, que se han denominado poligenes, y más recientemente QTLs (Quantitative Trait Loci, loci génicos que controlan los caracteres cuantitativos), además de estar generalmente sometidos a un importante influjo ambiental. El efecto individual de cada uno de estos loci sobre el carácter suele ser pequeño, y no puede observarse separadamente; por tanto, al medir los individuos respecto al carácter en estudio no se pueden hacer agrupaciones objetivas, sabiendo que un mismo valor fenotípico puede englobar varios genotipos distintos. De ahí la necesidad de métodos efectivos para el análisis de caracteres cuantitativos que revelen su componente genético.

A finales del siglo XIX, antes del redescubrimiento de los trabajos de Mendel que describen el modo de herencia de los caracteres cualitativos, nació el análisis de caracteres cuantitativos. Durante algunos años estos dos enfoques parecían ser incompatibles. Uno de los avances más grandes para la conciliación de estas dos visiones la hizo Johannsen (1909), que demostró que la variación continua del peso de las judías era consecuencia de la combinación de múltiples genes segregando y de factores ambientales. En el mismo año, Nilsson-Ehle demostró que existen muchos factores que se heredan independientemente y que contribuyen con efectos similares al color del grano de trigo. Este autor y, paralelamente, East (1910) propusieron una teoría de variación alélica para algunos loci, combinada con variación ambiental, para describir la variación continua del fenotipo. La validez de esta teoría fue demostrada posteriormente de forma experimental por East y colaboradores (East y Hayes, 1911; Emerson y East, 1913). A partir de entonces, la genética de los caracteres cuantitativos se empezó a estudiar con técnicas estadísticas (mediante medias, varianzas, covarianzas, heredabilidades, etc. en cruzamientos y poblaciones) que pretenden estimar el número de genes implicados, la magnitud y dirección de sus efectos conjuntos (posibilidad de fijar la variación) y las relaciones entre caracteres. Se asume que para un carácter hay numerosos genes segregando en una población dada, cuyos efectos son integrados al expresarse el carácter, siendo modificados por el ambiente. En la actualidad, el estudio de caracteres cuantitativos mediante la detección de QTLs permite diseccionar la variación en genes individuales. Sobre el análisis de QTLs se tratará más adelante, mientras que los siguientes apartados revisan algunos aspectos fundamentales del análisis genético cuantitativo.

1.5.2. Evaluación fenotípica y selección

1.5.2.1. Definiciones y componentes

Como se ha dicho, la variación continua que se observa en los caracteres cuantitativos se debe:

- a la segregación simultánea de, generalmente, muchos genes, de forma que cada uno hace un pequeño aporte a la determinación del carácter. El genotipo de un individuo es la combinación de los efectos individuales de estos genes y de sus interacciones.
- a la acción o el efecto del ambiente, que modifica el genotipo.

El fenotipo (P), pues, es la expresión resultante de la acción combinada del genotipo (G) y del ambiente (E), lo cual se suele representar así:

$$P = G + E$$

El genotipo de un individuo para un determinado carácter es el conjunto de genes que influye en su expresión. El ambiente es el conjunto de todas las causas no genéticas que influyen en el valor fenotípico. El genotipo da un cierto valor al carácter de un individuo, pero este valor se ve afectado por el ambiente, que produce un incremento positivo o negativo. Por ejemplo, la altura de una planta dependerá en principio de su genotipo, pero las condiciones de cultivo pueden modificar su potencial de crecimiento.

El valor genotípico de un carácter cuantitativo puede estimarse como la media de los valores fenotípicos de los individuos que tienen un mismo genotipo, evaluados en distintos ambientes. Dentro del valor genotípico cabe destacar, por un lado, que los distintos genes que intervienen no tienen por qué producir efectos similares. La suma de los efectos de todos los genes que intervienen en un determinado carácter da un valor aditivo resultante. Por otro lado, entre los alelos de los genes son posibles las relaciones de dominancia y entre los genes implicados en el carácter las relaciones de epistasia. Por último, estos genes pueden segregarse independientemente o estar ligados, lo que modifica las proporciones genotípicas.

Por tanto, hay que esperar que, en el caso de un carácter cuantitativo controlado por muchos genes, el valor fenotípico (P) final sea debido:

- al componente aditivo (A), debido al efecto medio de cada alelo presente en un locus,
- al componente dominante (D), debido a la interacción entre los alelos del mismo locus,
- al componente de la interacción epistática (I), debido a las interacciones entre los alelos en loci distintos, y
- a la desviación ambiental que, por una parte, actúa modificando las acciones de los genes, es lo que se denomina componente ambiental (E); pero por otra parte, esta modificación no es idéntica para todos los genes, por lo que también se considera el componente de la interacción genotipo-ambiente (GxE).

De forma que la ecuación anterior quedará:

$$P = (A + D + I) + E + GxE$$

1.5.2.2. Análisis de varianza (ANOVA)

El estudio fenotípico de un carácter cuantitativo se basa en el análisis de su valor medio y de su variación en una población o en un cruce; tal variación se expresa en términos de varianza (V), que se define como la media de las desviaciones cuadráticas de los valores individuales con respecto a la media poblacional:

$$V = \frac{\sum (P_i - m)^2}{n}, \text{ donde:}$$

P_i = valor fenotípico del carácter en un individuo
m = valor medio de los fenotipos de la población
n = número de individuos de la población

Por lo tanto, la ecuación anterior del valor fenotípico se puede expresar también en términos de varianzas:

$$V_P = (V_A + V_D + V_I) + V_E + V_{GxE} + COV_{GE}$$

Donde COV_{GE} es la covarianza entre el genotipo y el ambiente. En los casos en los que, como en esta tesis, los genotipos han sido sometidos a un mismo ambiente, la covarianza es cero.

En un buen diseño experimental, las interacciones genotipo-ambiente se pueden eliminar mediante una completa distribución al azar del material en estudio. Aun no siendo así, con frecuencia se desprecian para simplificar los modelos matemáticos. Por otra parte, si sólo se disponen de datos de las generaciones P (parental), F1 (primera generación filial), F2 y F3 de un cruzamiento, no puede estimarse la varianza epistática. Dado que esta tesis se realiza en las generaciones F2 y F3, en nuestro estudio nos limitamos al modelo aditivo-dominante, sabiendo que en este modelo V_A y V_D pueden estar sobreestimadas, porque incluirían la varianza epistática si ésta fuera significativa. La varianza ambiental se puede estimar a partir de los datos de un testigo homocigoto (en el que no existe varianza genotípica y toda la varianza fenotípica observada es ambiental).

El análisis de la varianza (ANOVA) permite comparar dos grupos o más, estableciendo modelos con diferentes fuentes de variación, como el genotipo, el ambiente, o el tratamiento, etc. y sus interacciones. Además, con el ANOVA es posible estimar los diferentes componentes de la varianza. Disponer de una estima de la varianza genética es importante a la hora de llevar a cabo un plan de mejora: conocer la contribución relativa del componente genético a la variación total de un carácter (es decir, la parte de la variación no debida a efectos ambientales) determinará la eficacia de la selección fenotípica, así como el esquema de mejora más apropiado para un determinado carácter. La heredabilidad es el parámetro que la mide.

1.5.2.3. Heredabilidad y respuesta a la selección

La heredabilidad se suele expresar de dos modos: por un lado, la llamada heredabilidad en sentido amplio (H^2 o h^2_b , según autores) es la proporción de la varianza fenotípica de un carácter cuantitativo debida al conjunto de los efectos genéticos, y es el cociente entre la varianza genética y la varianza fenotípica; y por el otro, la heredabilidad en sentido estricto (h^2 o h^2_n , según autores) es la proporción de la varianza fenotípica de un carácter cuantitativo debida exclusivamente a los efectos aditivos de los genes y es el cociente entre la varianza aditiva y la varianza fenotípica (Allard, 1960; Kearsey y Pooney, 1996):

$$H^2 = \frac{V_G}{V_P} \qquad h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

La heredabilidad en sentido estricto es más interesante en los planes de mejora cuya finalidad sea la obtención de variedades que sean líneas puras, como es el caso las variedades no híbridas, ya que el efecto dominante se pierde cuando los genes están en homocigosis.

La heredabilidad no es una propiedad intrínseca de un carácter, sino que depende de la población y de las condiciones ambientales a las que están sujetos los individuos. La estima de la heredabilidad se refiere siempre a un cruzamiento, población o generación determinados, ya que la contribución de los componentes genéticos depende del conjunto de genes concretos (número, efectos génicos,...) que estén presentes. Por tanto, no puede hablarse de un valor único de la heredabilidad para un carácter cuantitativo de una determinada especie, si bien hay caracteres que tienden a presentar heredabilidades más altas que otros.

Otra forma de estimar la heredabilidad en sentido estricto de un carácter cuantitativo es midiendo la respuesta a la selección de una generación a la siguiente, obteniéndose la que se denomina heredabilidad realizada, por regresión lineal de la respuesta sobre el diferencial de selección (Falconer, 1981). A nivel práctico, partiendo de una población con una media M_0 , se seleccionan una proporción de los individuos para formar la siguiente generación con una media M_S ; a la diferencia de estas dos medias se denomina diferencial de selección (S). La diferencia entre la media de los descendientes de los individuos seleccionados M_R y la M_0 se denomina respuesta a la selección (R). Sin embargo, el arroz es una planta anual y las generaciones sucesivas se cultivan en años distintos; por tanto, sus ambientes no son idénticos. En estas condiciones, la comparación entre las medias de generaciones segregantes sucesivas tiene sólo un carácter orientativo para conocer, por ejemplo, la efectividad de la selección.

1.5.2.4. Correlación entre caracteres

En los planes de mejora en los que se pretende seleccionar varios caracteres cuantitativos a la vez, es importante conocer la medida en la que éstos están relacionados entre sí. El valor de la correlación entre dos caracteres indica en qué grado y dirección co-varían (en el mismo sentido o en sentido inverso). La

existencia de una correlación indeseada puede impedir una respuesta eficaz a la selección. La correlación puede deberse a un efecto pleiotrópico (en el que un único gen es el responsable de efectos fenotípicos sobre caracteres distintos), o a un ligamiento genético entre genes que afectan a distintas características. Saber si se trata de una u otra causa puede ayudar a diseñar un programa de mejora.

Aunque es indeseable en muchos casos, en ocasiones la correlación genética entre caracteres puede ser utilizada a favor del mejorador: es el caso de la selección indirecta de algunos caracteres difíciles o costosos de evaluar o evaluados en estados avanzados de desarrollo.

1.5.3. Análisis de QTLs

1.5.3.1. Definición y usos de los QTLs

El término QTL fue acuñado por Gelderman (1975) para referirse a cada uno de los “factores efectivos” que controlan parte de la variación de un carácter cuantitativo; indica un único locus, aunque puede tratarse de más de un gen estrechamente ligados.

La naturaleza de los QTLs implicados en los caracteres cuantitativos sigue siendo un enigma: ¿son loci estructurales, reguladores o regiones que se transcriben? Otra posibilidad es que algunos sean alelos “menores” de loci “mayores” o mendelianos ya conocidos (Thompson, 1975). En este sentido, Robertson (1985) sugirió que los loci que determinan mutantes cualitativos o discretos en caracteres cuantitativos, serían en realidad alelos nulos o defectivos de QTLs; en apoyo a esta hipótesis están los resultados de Beavis *y col.* (1991) y Edwards *y col.* (1992), que encontraron QTLs para la altura del maíz en localizaciones coincidentes con loci responsables de enanismo. Asimismo, Huang *y col.* (1996) encontraron fuertes asociaciones entre la localización en el mapa de QTLs de altura y genes de enanismo en arroz.

Por otro lado, ¿cuántos QTLs determinan un carácter cuantitativo? Hyne y Kearsey (1995) demostraron que es difícil localizar más de 12 QTLs para un determinado carácter en un único experimento (una población y un ambiente). Además, los análisis han demostrado que los efectos de los QTLs que intervienen en un carácter son diferentes entre sí. De hecho, en la mayoría de los caracteres,

la mayor parte de la variación genética está explicada por unos pocos QTLs de efectos grandes, mientras que el resto podrían actuar como modificadores.

La identificación de QTLs mediante marcadores genéticos tiene fundamentalmente dos aplicaciones: por una parte, los marcadores que muestren estar ligados a un carácter de interés pueden ser utilizados como criterio de selección indirecta y facilitar la introgresión del carácter en programas de mejora mediante M.A.S. Y, por otra parte, permite profundizar en el conocimiento del carácter en cuestión, ya que la identificación de los QTLs es el primer paso para conocer las bases moleculares de la variación genética natural de los caracteres complejos. El análisis de los QTL puede revelar las bases genéticas de las relaciones entre caracteres y permite una investigación comprehensiva de las relaciones genéticas entre caracteres morfológicos y fisiológicos.

Como se comentó anteriormente, cuando se pretende mejorar varios caracteres simultáneamente, una correlación negativa entre características deseables dificulta la selección de todos ellos a la vez. Ésta es una de las principales limitaciones de la mejora clásica. Sin embargo, la identificación de los QTLs individuales que controlan estos caracteres puede ayudar a determinar cuáles de estos efectos asociados corresponden a efectos pleiotrópicos, y cuáles son consecuencia del ligamiento entre QTLs contiguos, que pueden ser separados por recombinación y permitir mejorar los caracteres a la vez.

Para poder utilizar marcadores como criterios de selección indirecta se ha de comprobar la estabilidad de los QTLs en diferentes poblaciones y ambientes. Por un lado, la expresión de algunos QTLs se ve modificada por el fondo genético: pueden existir múltiples alelos de los QTLs con efectos distintos; algunos QTLs pueden quedar sin detectar porque no hay polimorfismo en esa región cromosómica en un cruzamiento dado; y también pueden darse interacciones epistáticas de otros loci del genoma sobre un QTL dado, modificando su efecto. Por otro lado, la influencia del ambiente en la expresión de los QTLs también es notable; de hecho, es muy probable que los estudios realizados en un único ambiente subestimen el número de QTLs que controla un determinado carácter. Lu y *col.* (1996) identificaron 22 QTLs para 6 caracteres agronómicos en arroz usando dobles haploides en tres ambientes diferentes, pero sólo siete de ellos se detectaron en los tres ambientes. Asimismo, Liao y *col.* (2001) detectaron varios QTLs para el número de panículas de arroz en diferentes fondos genéticos y

diferentes ambientes, pero sólo uno de ellos se detectó en dos poblaciones y en dos ambientes. La posibilidad de trabajar con poblaciones de dobles haploides (DH) y líneas recombinantes (RIL) permite evaluar los mismos genotipos varias veces o en varias condiciones ambientales, años diferentes, localidades, etc., de modo que es posible estudiar la estabilidad de la expresión de cada QTL.

1.5.3.2. Detección de QTLs

El mapeo de QTLs incluye tres etapas:

- 1) Generación de una población segregante
- 2) Genotipado de la población con marcadores genéticos (y construcción del mapa de ligamiento si ha lugar)
- 3) Análisis de QTLs mediante la búsqueda de asociación entre los marcadores y los valores fenotípicos del carácter en la población.

A continuación se detallan algunos aspectos importantes de este proceso.

Generación de la población segregante

En el diseño experimental se ha tener en cuenta el tipo y el tamaño de la población segregante, así como el número y la capacidad informativa de los marcadores analizados. Para la generación de la población se han de seleccionar parentales que se diferencien en los caracteres de interés y aseguren segregación en la descendencia, aunque en ocasiones se producen segregaciones transgresivas, en las que la población muestra valores que superan los de los parentales (por exceso o por defecto). Por otra parte, buscar poblaciones que tengan un alto nivel de polimorfismo en cuanto a los marcadores tiene el inconveniente de que los parentales pueden estar separados por una gran distancia genética, que dificulta su utilización en mejora. Hay diferentes tipos de poblaciones segregantes y se clasifican en dos categorías según su estabilidad genética:

- poblaciones de segregación temporal, como las F2 y los retrocruzamientos (entre las más utilizadas), o
- poblaciones de segregación fijada, como los dobles haploides y las líneas recombinantes.

Población F2

Se obtiene de la descendencia de los híbridos F1 en el caso del arroz y plantas autógamas (al menos parcialmente), mediante autofecundación. Su principal ventaja en las plantas autógamas es su facilidad y rapidez de generación. Este tipo de poblaciones tiene el valor máximo de heterocigosidad (después de la F1) y en cada locus están presentes las tres clases genotípicas, lo que permite estimar los valores aditivo y dominante de los QTLs (Carbonell y *col.*, 1993). La principal desventaja de este tipo de población es que no se pueden conservar ni multiplicar sus genotipos para hacer réplicas de los experimentos. En ocasiones, es posible complementar los datos fenotípicos disponibles si se toma el valor medio de la línea F3 descendiente de cada planta F2 (Romero-Severson y *col.* 1989), que es lo que se denomina valor de mejora (“breeding value”) de un genotipo. Del mismo modo, se pueden utilizar generaciones sucesivas (pero aplicando las correcciones pertinentes).

Retrocruzamiento

Se obtiene cruzando un híbrido (generalmente F1) con uno de los parentales. Al igual que en las F2, no es posible mantenerlo permanentemente sin que haya segregación. Por otra parte, cuando estas poblaciones derivan de una F1, sólo están presentes dos genotipos por loci, perdiéndose la información correspondiente al efecto de uno de los homocigotos (habitualmente, el llamado donador).

Dobles haploides (DH)

Se obtienen a partir del cultivo de tejido haploide (polen u óvulos, normalmente de la generación F1). La duplicación de los cromosomas se produce espontáneamente (como ocurre con frecuencia en los cereales) o es inducida (químicamente o por estrés). De esta forma se obtiene una población de individuos que son homocigotos en todos sus genes. La principal desventaja de este tipo de población radica en la dificultad y laboriosidad que tiene a veces el cultivo de tejidos.

Líneas recombinantes (RILs)

Se obtienen a partir de la autofecundación continuada de los individuos F2 y de su descendencia hasta conseguir homocigosis en los loci segregantes. El principal inconveniente de este tipo de poblaciones es el tiempo necesario para generarlas.

Cuando se utilizan poblaciones DH o RILs, no se encuentran genotipos en heterocigosis, de modo que no se puede detectar la existencia de efectos dominantes en los QTLs; pero la estabilidad genética de este tipo de poblaciones permite su multiplicación y reproducción para replicar los ensayos en diferentes localidades y años, e incluso transferir el material a diferentes laboratorios para otros ensayos, siendo muy recomendables cuando se tiene interés en el estudio de los efectos ambientales.

Respecto al tamaño de la población, cuanto mayor es, más preciso es el mapa genético y mayor es la probabilidad de detectar QTLs de efectos menores (Haley y Andersson, 1997; Tanksley, 1993). Un aumento del tamaño de la población proporciona mayor poder estadístico, y mejor estimación de los efectos genéticos y de los intervalos de confianza de la localización de los QTLs (Beavis, 1998; Darvasi *y col.*, 1993). Sin embargo, llega un punto en que el aumento del tamaño poblacional apenas repercute en la potencia del análisis, siendo más recomendable el aumento del número de marcadores (Stuber *y col.*, 1999). Por otra parte, Darvasi *y col.* (1993) demostraron que la precisión no aumenta con la densidad de marcadores a partir de los 5-10 cM.

Construcción del mapa de ligamiento

Para la construcción del mapa del ligamiento de la población se han de identificar en los parentales los marcadores polimórficos (es decir, aquellos en los que cada parental presente un alelo distinto), y una vez identificados, proceder al genotipado de los individuos de la población. Para comprobar si los marcadores segregan según las proporciones esperadas se suelen realizar pruebas Chi-cuadrado. Generalmente los marcadores segregan de forma mendeliana, aunque pueden encontrarse marcadores con segregación distorsionada. Éstos suelen estar asociados a un mayor o menor grado de esterilidad o inviabilidad pre-zigótica o post-zigótica; en la primera, algún factor (gen) produce la disfunción de los gametos que contienen uno de los alelos. En arroz se han detectado diversos

genes de esterilidad gametofítica (*ga*); Sano (1990), Lyttle (1991) y Thomson y *col.* (2003) justificaron este fenómeno como el resultado de la competencia gamética o del aborto de los gametos femenino o masculino (incompatibilidad gamética). Por otra parte, también se han encontrado genes de esterilidad de los híbridos (*S*), o que provocan una acusada debilidad de éstos (“hybrid breakdown”, *hbd*; Yamamoto y *col.*, 2010).

Con los datos del cribado de los marcadores en los individuos de la población se procede al cálculo del mapa de ligamiento. Los mapas de ligamiento indican la posición y las distancias genéticas relativas que existen entre los marcadores a lo largo de los cromosomas. Las distancias genéticas existentes entre los marcadores se estiman por la frecuencia de recombinación entre ellos; esta distancia no siempre es proporcional a la distancia física, porque la frecuencia de recombinación está influenciada también por otros aspectos (homología entre genomas, región cromosómica, proximidad al centrómero, etc.). Así, algunos autores, como Young (1994) y Hartl y Jones (2001) han comprobado que la frecuencia de recombinación entre marcadores no es igual en todas las zonas del genoma. Además, los marcadores polimórficos no siempre se encuentran distribuidos uniformemente a lo largo de los cromosomas (Paterson, 1996). Los marcadores que se encuentran ligados entre sí se ordenan en “grupos de ligamiento”, que pueden corresponder a segmentos de cromosomas o a cromosomas enteros.

La posición relativa de los marcadores en el mapa se deduce de las distancias relativas de unos a otros a partir de estimas entre 2, 3 ó más loci. Los errores del genotipado y los datos perdidos pueden afectar al orden y a las distancias entre marcadores del mapa de ligamiento (Hackett, 2002). La distancia genética entre dos genes ligados se puede estimar teniendo en cuenta que la probabilidad de que se produzca recombinación entre los genes depende de lo separados que estén. Así, cuando dos loci de un mismo cromosoma están tan lejos que siempre se produce entrecruzamiento entre ellos, se consideran genéticamente independientes. En este caso, la frecuencia o fracción de recombinación entre ellos es máxima ($r=1/2$, porque recombinan dos de las cuatro cromátidas). Por el contrario, si el ligamiento es total, nunca se produce sobrecruzamiento entre ellos, y r es igual a 0. Así, la distancia entre dos loci se define como el valor de la fracción de recombinación en tanto por cien, y la unidad que la mide es el Morgan (M) o, más frecuentemente, el centiMorgan (cM). De

este modo, la distancia entre dos loci ligados (d) oscila entre 0 y 50 cM, y a partir de este valor se considera que estos loci segregan independientemente. Pero para el cálculo de las distancias genéticas se utilizan las llamadas “funciones de mapa” que transforman la fracción de recombinación, ya que la frecuencia de recombinación y de sobrecruzamiento no es una relación lineal, debido a la interferencia en los sobrecruzamientos (es decir, que la existencia de un sobrecruzamiento afecte o no a la probabilidad que se produzca otro) (Hartl y Jones, 2001; Kearsey y Pooney, 1996). Se utilizan dos funciones de mapa diferentes, según se considere o no la existencia de interferencia en los sobrecruzamientos: la función de mapa de Haldane supone ausencia de interferencia, mientras que la función de mapa de Kosambi supone una situación intermedia entre la interferencia total y la ausencia total de interferencia. Cuando las distancias son pequeñas (<10 cM), ambas funciones dan resultados muy similares; sin embargo, si las distancias son mayores, el resultado es distinto según la función de mapa empleada.

En la práctica, para calcular las distancias genéticas y las posiciones relativas de los marcadores, se utilizan una serie de programas que estiman las relaciones de probabilidad (la probabilidad del ligamiento respecto a la probabilidad de independencia genética). La significación se expresa como el logaritmo de esta relación de probabilidad (LOD) (Risch, 1992). Para la construcción de mapas de ligamiento se suelen usar valores de LOD mayores que 3, que indican que la probabilidad de ligamiento es 1000 veces mayor que la de independencia; aunque se pueden utilizar valores menores de LOD para asignar marcadores que en un principio no aparecen ligados.

El primer mapa genético de arroz que utilizó marcadores moleculares incluía 135 marcadores RFLPs (McCouch y *col.*, 1988); posteriormente se fue completando con otro tipo de marcadores moleculares como RAPD, SSR, AFLP, EST, STS, etc., hasta saturar todas las regiones cromosómicas. Uno de los más completos con SSRs es el de Temnykh y *col.* (2000) que incluyó por primera vez más de 300 marcadores. También cabe destacar los intentos de establecer mapas con marcadores que sirvan como puntos de anclaje (lo que se conoce como “core maps”), que faciliten la comparación entre estudios diferentes, como por ejemplo el trabajo de Orjuela y *col.* (2010) entre los más recientes. En la actualidad, tras la iniciativa internacional para la secuenciación completa del genoma del arroz, se dispone de mapas moleculares detallados que incluyen la localización de miles de

genes, marcadores moleculares y ESTs. Gracias al trabajo conjunto del IRRI, la Universidad de Cornell y diversos grupos de investigación que han ido compartiendo sus resultados se dispone de numerosos mapas con marcadores de arroz que se pueden consultar en la página de Gramene (www.gramene.org). Estos mapas se han utilizado para localizar genes que controlan muchos caracteres de interés agronómico, fisiológico y económico: numerosos genes de resistencia a enfermedades y plagas, sensibilidad al fotoperiodo, aroma, androesterilidad, etc., se han situado ya en los mapas genéticos moleculares, así como abundantes QTLs para todo tipo de caracteres; por ejemplo, muestra una revisión de los QTLs de resistencia a *Magnaporthe oryzae* en Ballini y col. (2008).

Métodos estadísticos para el mapeo de QTLs

Los QTLs se detectan basándose en la asociación entre el fenotipo y los genotipos en loci marcadores polimórficos de cada uno de los individuos de una población segregante. Un marcador divide a la población en los diferentes grupos genotípicos posibles a partir de la presencia o ausencia de los alelos de un determinado locus (en homocigotos y heterocigotos, en el caso de los marcadores codominantes, o en presencia o ausencia de un alelo, en el caso de los dominantes). Si el análisis de varianza muestra diferencias significativas entre las medias del carácter de cada grupo genotípico, este marcador está ligado a un QTL que controla el carácter analizado. Esto se explica porque cuanto más cerca se encuentre un marcador de un QTL, menor será la oportunidad de recombinación entre ellos y mayor será la probabilidad de que se hereden juntos en la descendencia. En cambio, si un marcador y un QTL no se encuentran ligados, ambos se heredan independientemente y no habrá diferencias significativas entre las medias de los grupos genotípicos (Tanskey, 1993).

Los métodos estadísticos utilizados para la detección de QTLs se basan, bien en el estudio de la asociación de un posible QTL con cada uno de los marcadores por separado, lo que se conoce como “análisis marcador a marcador”, o bien en el estudio de la probabilidad de existencia de un QTL dentro del intervalo acotado por dos marcadores no muy distantes entre sí, lo que se conoce como “mapeo por intervalos”, del que existen diferentes modalidades (Liu, 1998; Tanskey, 1993).

❖ **Análisis marcador a marcador**

Es el método más simple y analiza si existe asociación entre un marcador individual y una característica fenotípica (Zeng, 1994). Los métodos estadísticos que se utilizan para este análisis son la prueba t de Student, el análisis de varianza (ANOVA) y el análisis de regresión múltiple. Éste último es el más utilizado, ya que su coeficiente de determinación (R^2) es proporción de la variación fenotípica explicada por el QTL ligado a este marcador. Este método no requiere un mapa de ligamiento completo, ni que las distancias entre los marcadores sean pequeñas, ya que la única información que aporta es la existencia de un QTL próximo a un marcador, y no su localización precisa en el genoma. El análisis marcador a marcador es poco informativo, ya que la detección de la asociación entre un QTL y un marcador depende tanto del grado de ligamiento entre ambos como de la magnitud de los efectos genéticos del QTL; es decir, con esta metodología, para un mismo nivel de significación estadística de la asociación, no se distingue entre un QTL con efecto genético pequeño que esté próximo al marcador, o un QTL con efecto importante pero alejado del marcador. Por tanto, este método puede fallar en la estimación del número y la posición de los QTLs y de la magnitud de sus efectos (McMillan y Robertson, 1974; Lander y Botstein, 1989).

❖ **Mapeo por intervalos**

En 1961, Thoday introdujo el mapeo por intervalos, y en 1989, Lander y Botstein presentaron el tratamiento matemático para este método. El mapeo por intervalos simple (SIM) utiliza el mapa de ligamiento y busca QTLs en los intervalos entre pares de marcadores contiguos a lo largo de los cromosomas. Así, se calcula el “mapa de probabilidad” a lo largo de cada grupo de ligamiento. La significación de la hipótesis de presencia de un QTL se expresa por la LR o la LOD (siendo la primera la relación entre la probabilidad de que exista un QTL en una localización dada, y la de que dicho intervalo muestre la misma asociación con el fenotipo sin que exista realmente un QTL, y la segunda el logaritmo de esta relación). En las regiones cromosómicas en las que dicha relación de probabilidades supera un umbral predeterminado, se declara la existencia de un QTL, asumiendo que su localización corresponde al punto que proporciona el cociente máximo. El SIM se considera estadísticamente más poderoso que el análisis marcador a marcador, ya que al analizar simultáneamente los intervalos

entre pares de marcadores adyacentes ligados a lo largo de los cromosomas, se compensa el efecto de la recombinación entre marcadores y QTL y, por tanto, se pueden estimar con cierta precisión tanto la posición como la magnitud de los efectos genéticos del QTL.

Jansen y Stam (1994) y Zeng (1994) desarrollaron el mapeo por intervalos compuesto (CIM), que es una ampliación del SIM. En teoría, proporciona una mejor resolución de los QTLs porque incluye la varianza de otros QTLs, localizados en regiones cromosómicas diferentes (incluyendo los efectos asociados a marcadores que no se encuentran en ningún grupo de ligamiento) como cofactores en la estima de los efectos de un intervalo dado. Gracias al uso de cofactores, el CIM tiene en cuenta la variación debida a QTLs importantes y aumenta el poder de detección de QTLs de efectos menores (Septiningsih y *col.*, 2003).

Posteriormente, se desarrolló el mapeo por intervalos múltiple (MIM) (Kao y Zeng, 1997; Kao y *col.* 1999), que permite el análisis de múltiples intervalos simultáneamente. Este análisis posibilita el estudio de la arquitectura genética de un carácter, pues considera los efectos de múltiples QTLs putativos e incluye la probabilidad de que existan efectos epistáticos directamente en el modelo; con ello se facilita el análisis y la estimación de las posiciones, efectos e interacciones de todos los QTLs, incluso la heredabilidad del carácter.

Para manejar la gran cantidad de datos y estimas que requiere el mapeo por intervalos se han desarrollado paquetes estadísticos específicos como MapMaker/QTL (Lincoln y *col.*, 1993), MapQTL 5 (Van Ooijen, J.W., 2004), o QTLCartographer (Wang y *col.*, 2005).

La eficacia de la detección de QTLs que controlan un determinado carácter puede verse influenciada por las propiedades genéticas de éstos: el número y la contribución de cada QTL a la variación genotípica total, las interacciones entre ellos y su distribución en el genoma. Sólo los QTLs con efectos fenotípicos suficientemente grandes podrán ser detectados, ya que los QTLs de efecto muy pequeño no superarán el umbral de significación requerido para declarar su existencia con confianza. Por otra parte, los QTLs que se encuentren en zonas muy próximas en un cromosoma (a menos de 20 cM) pueden ser detectados como un único QTL; en este caso el QTL encontrado es, en realidad, el centro de gravedad de varios loci que se encuentran ligados, y lo que se está

evaluando es el valor cuantitativo promediado de ese segmento cromosómico. Sin embargo, esto es igualmente informativo y útil en la mayoría de las aplicaciones en mejora.

En los últimos 15 años, han sido numerosos los estudios que han utilizado marcadores moleculares en la detección, mapeo y caracterización de QTLs en arroz (McCouch y Doerge, 1995; Mackill y *col.*, 1999, Gowda y *col.*, 2003; Reddy y *col.*, 2005; Yan y *col.*, 2007; Zhu y *col.*, 2008; Lui y *col.*, 2010, etc.). Entre otros, se han detectado QTLs para un gran número de caracteres relacionados con la resistencia al encamado, dimensiones del grano y perlado. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se ha realizado con la subespecie *indica* o a partir de cruzamientos entre *indica* x *japonica*, en diferentes tipos de poblaciones y en diferentes condiciones ambientales. Nuestro estudio se ha realizado en variedades de la subespecie *japonica* y en las condiciones ambientales de nuestra zona. Esto nos permitirá determinar si los QTLs que controlan la resistencia al encamado, las dimensiones del grano y el perlado en nuestro caso son los mismos o si su expresión es diferente en nuestras condiciones ambientales. Por ello se plantea una aproximación particular y local al estudio de estos caracteres.

1.5.4. Uso de marcadores moleculares en mejora

En la mejora de los caracteres cuantitativos los marcadores moleculares juegan dos papeles principales: la construcción del mapa de ligamiento en el que se identificarán las regiones cromosómicas que continen QTLs y, una vez mapeados éstos, los marcadores asociados a los QTLs de interés pueden usarse para realizar M.A.S. Además de estas aplicaciones, los marcadores moleculares se utilizan en:

- diversos aspectos de los estudios evolutivos, filogenéticos y sobre genética de poblaciones: análisis de la estructura poblacional, cuantificación de la variabilidad genética intra e interespecífica, o análisis de linajes y de sistemas reproductivos;
- la generación de huellas genéticas (Fingerprinting) para la caracterización de germoplasma, certificación varietal, evaluación de la pureza de semilla híbrida, que son de gran ayuda para el mejorador y protegen la propiedad intelectual del obtentor; y
- estudios de parentesco, o análisis de paternidad.

Seguidamente, nos detendremos con un poco más de detalle en la descripción de esta herramienta de la mejora molecular.

1.5.4.1. Concepto y características de un marcador

Un marcador genético es cualquier característica heredable y con variantes fácilmente diferenciables que, bien se encuentre asociada (estadísticamente correlacionada) con un carácter de interés, o bien indique una región cromosómica concreta.

Los atributos ideales de un marcador son:

- alto polimorfismo;
- herencia mendeliana;
- ausencia de interacciones con otros marcadores;
- insensibilidad a la influencia ambiental;
- ausencia de efecto sobre el fenotipo; es decir, que se comporte como un gen neutro;
- simplicidad en la identificación y análisis;
- codominancia;
- posibilidad de detección en las primeras fases de desarrollo del organismo;
- consumo mínimo del material biológico para su análisis; y
- distribución homogénea a lo largo del genoma en el caso de su utilización para la construcción de mapas.

1.5.4.2. Tipos de marcadores

La primera sugerencia del uso de marcadores como criterio de selección fue hecha por Sax en 1923, que describió el ligamiento de un carácter cuantitativo a un gen mayor para un carácter morfológico: observó que había diferencias significativas entre el peso de las semillas de judía según su color, y dedujo que el locus del color estaba ligado al locus que afectaba al peso de la semilla. Chao (1928) describió los primeros marcadores morfológicos en arroz y con este tipo de marcadores se estableció el primer mapa con 12 grupos de ligamiento (Nagao y

Takahashi, 1963). Este tipo de marcadores corresponde a características fácilmente observables en el fenotipo, controladas generalmente por un solo gen de herencia mendeliana. Sin embargo, su escasez, su poca variabilidad y la posibilidad de interferencia epistática o ambiental limitan su uso. El salto cualitativo se produjo cuando se empezó a trabajar con un nuevo tipo de marcadores, denominados marcadores moleculares, que consisten en la observación de variantes alélicas de moléculas (bien proteínas, o bien ADN). En primer lugar, en los años 70 se desarrollaron marcadores basados en la identificación de las variantes de proteínas e isoenzimas en geles de almidón, poliacrilamida, agarosa o acetato de celulosa. Pero esta técnica tiene dos limitaciones muy importantes: por un lado, la variabilidad es muy limitada, especialmente entre genotipos próximos; y por otro, los análisis son poco estables, dado que las proteínas son el resultado de la expresión génica y ésta puede ser distinta en diferentes tejidos, etapas del desarrollo, ambientes y épocas del año. Además, su número es limitado, y por tanto no tienen representación en todas las regiones del genoma. Con el descubrimiento de técnicas para extraer, manipular y caracterizar ADN, la búsqueda de marcadores genéticos consiguió superar varias de las desventajas de los marcadores anteriores, ya que la evaluación a nivel de ADN les hace independientes del estado fenológico de los individuos, del tejido y de los factores de estrés y climáticos. Además, las mutaciones que dan lugar a los polimorfismos suelen tener un efecto neutro, bien porque frecuentemente se encuentran situados en zona no codificantes del ADN, o bien porque la mutación no altera la secuencia proteica codificada. Estos marcadores revelan diferencias genéticas que se observan mediante diversas técnicas. Los tipos de marcadores descritos son cada vez más numerosos, pudiéndose agrupar según la técnica en que se basan:

Técnicas basadas en la hibridación. Los más destacados son los RFLPs (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción; Parker y *col.*, 1998), que fueron los primeros marcadores que permitieron realizar estudios exhaustivos de genomas completos. Este tipo de marcadores consiste en la detección de fragmentos específicos de ADN genómico digerido por endonucleasas de restricción. La variabilidad presente en el marcador molecular se debe a diferencias en la secuencia del ADN genómico causadas por duplicaciones, deleciones, inserciones, etc., que modifican las distancia entre pares de sitios de restricción y generan fragmentos polimórficos (de diferente longitud). Estos

fragmentos cortados por la enzima de restricción se separan por su tamaño mediante electroforesis y se transfieren a una membrana, donde son hibridados con una sonda marcada, específica de este fragmento. En este proceso, la sonda hibrida sólo con fragmentos de ADN inmovilizados en la membrana que presenten la secuencia complementaria a la misma. Para ver los polimorfismos, se expone la membrana a una placa radiográfica. La ventaja de los RFLPs radica en que son muy específicos, altamente reproducibles y generalmente codominantes. Sin embargo, se trata de marcadores muy laboriosos, difíciles de automatizar, relativamente caros y pueden requerir un manejo e infraestructuras específicas si el marcaje es radioactivo; además, su número y variabilidad son limitados.

Técnicas basadas en la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). La PCR, desarrollada por Mullis y *col.* en 1986, es la síntesis enzimática de millones de copias de un segmento específico de ADN en condiciones adecuadas de temperatura y en presencia de una polimerasa de ADN termoestable y de fragmentos de oligonucleótidos (llamados “cebadores” o “primers”) que hibridan en las zonas flanqueantes de la secuencia que se amplifica; para que ocurra la amplificación es imprescindible que la secuencia de uno de los nucleótidos sea complementaria de una de las dos hebras (cadenas) de ADN molde (el segmento de ADN a amplificar) en uno de los extremos del segmento, mientras que el segundo oligonucleótido ha de ser complementario de otra hebra en el extremo opuesto del fragmento. La presencia de mutaciones en el lugar de hibridación de cualquiera de los oligonucleótidos impide la amplificación del fragmento. Con la aparición de esta técnica el número de marcadores se volvió prácticamente ilimitado, pues muchos de los marcadores generados no requieren conocimiento previo de la secuencia y se puede analizar prácticamente cualquier punto del genoma. Los marcadores más comunes de este grupo son:

- **RAPDs** (Polimorfismos de ADN amplificados al azar; Williams y *col.*, 1990, Welsh y McClelland, 1990). Fueron los primeros en desarrollarse. Utilizan fragmentos cortos e inespecíficos de nucleótidos (de 9-10 pb) que hibridan con secuencias homólogas en numerosos puntos del genoma, de manera que cuando dos de estos puntos no distan más de unos cientos pares de bases y se encuentran en cadenas opuestas del ADN, el segmento comprendido entre ellos se puede amplificar múltiples veces y ser visualizado mediante electroforesis en geles de agarosa. Como los cebadores utilizados son de longitud corta y la temperatura de

apareamiento es baja (36°C) se asegura la unión en numerosas secuencias del genoma, de modo que se consigue amplificar muchos fragmentos de ADN. La existencia de polimorfismo entre los segmentos de los diferentes genotipos se debe bien a cambios en la secuencia de los nucleótidos en los sitios de acoplamiento del oligonucleótido (lo cual genera polimorfismos de tipo presencia vs. ausencia, también llamados de tipo dominante), o bien por inserción o delección de fragmentos entre estos sitios (en cuyo caso se generan segmentos amplificados de distinta longitud). Se trata de una técnica muy cómoda, rápida, que requiere poco ADN (que además no necesita estar muy purificado), no necesita conocimiento de la secuencia, y se pueden distinguir rápida y simultáneamente muchos puntos del genoma (o loci). Sus inconvenientes principales son que aquellos fragmentos que amplifican de forma dominante resultan poco informativos, y que los patrones multibanda hacen más difícil el análisis y la transferencia de los resultados. Esta tecnología ha sido ampliamente utilizada para la identificación de genotipos, selección y caracterización de variedades, y diferenciación de líneas clonales.

- **AP-PCR** (PCR con oligonucleótidos arbitrarios; Welsh y McClelland, 1990). Son una modificación de la técnica de RAPDs, aunque cambian el diseño de los oligonucleótidos (no menos de 10 nucleótidos) y el tipo de PCR. Los fragmentos amplificados se pueden separar en geles de agarosa, o en gel de poliacrilamida para obtener resultados mucho más resolutivos. Existe una variación denominada **DAF** (huella digital por amplificación de ADN; Caetano-Anollés y col., 1991), que utiliza oligonucleótidos de 5 a 15 bases, pero las huellas proporcionadas suelen ser muy complejas y difíciles de interpretar.
- **SSRs** (Repeticiones de secuencia simple o microsatélites; Litt y Luty, 1989, Weber y May, 1989). Son el tipo de marcadores más frecuentemente utilizados en los últimos años y les dedicamos el siguiente apartado.
- **ISSRs** (Secuencias entre repeticiones simples; Gupta y col., 1994, Wolfe y Liston, 1998). Son una variación de la técnica de SSR. En este tipo de marcadores se amplifican regiones situadas entre microsatélites; gracias a

la conocida abundancia de secuencias repetitivas esparcidas por todo el genoma, esta técnica identifica múltiples loci. La diferencia principal con los SSRs radica en que los cebadores se han diseñado partiendo de la secuencia repetitiva del microsatélite y extendiéndose una o varias bases en la secuencia adyacente, a modo de puntos de anclaje. Las ventajas principales de este tipo de marcadores son que no se requiere información previa sobre las secuencias, pueden encontrar variación en varios loci simultáneamente, tienden a identificar niveles significativos de variación y son muy útiles para realizar perfiles de ADN, especialmente de genotipos estrechamente relacionados. Su principal desventaja es que generalmente son dominantes.

- **Marcadores basados en los retrotransposones.** Puesto que los retrotransposones se encuentran de forma ubicua y abundante en el genoma de las plantas, están distribuidos de manera dispersa y aleatoria, y son elementos capaces de replicarse e insertarse en nuevos puntos del genoma, existen varias metodologías que aprovechan las secuencias conservadas para generar marcadores. Los polimorfismos se producen por diferentes eventos de inserción, o por mutaciones en secuencias que se encuentren entre dos inserciones contiguas. Son marcadores de este tipo los **IRAPs** (polimorfismos amplificados entre retrotransposones; Kalendar y col., 1999), y los **RBIPs** (polimorfismos de inserción basados en retrotransposones; Flavell y col., 1998).

Marcadores mixtos. Todos ellos dependen de una etapa de PCR combinada con otras técnicas (restricción, secuenciación,...).

- **AFLPs** (Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados; Vos y col., 1995, Mueller y Wolfenbarger, 1999). Consisten, esencialmente, en la combinación de una digestión con enzimas de restricción y una amplificación por PCR, sin necesidad de conocer la secuencia con anterioridad. El ADN se digiere con dos enzimas de restricción, una de corte muy frecuente y otra de corte poco frecuente. A los fragmentos se les ligan oligonucleótidos de extremos compatibles con sitios de restricción de las enzimas usadas y se amplifican por PCR. Variando la longitud de los oligonucleótidos (que se extienden de 1 a 3 bases más allá del sitio de restricción), se puede disminuir o aumentar el número de bandas

amplificadas. Una ventaja de esta técnica es que es capaz de generar muchos marcadores moleculares en una sola reacción; por eso el resultado debe analizarse en un gel de poliacrilamida de alta resolución. Esta técnica ha tenido bastante implantación, aunque comparte los inconvenientes descrito para los RAPDs, y el uso de marcaje radioactivo, que es siempre una dificultad añadida.

- **STSs** (Sitios etiquetados por la secuencia; Olson y *col.*, 1989). Esta técnica amplifica secuencias concretas y únicas caracterizadas previamente, dentro del genoma. Tiene el inconveniente de que, si la secuencia es codificante, suele estar altamente conservada; pero la probabilidad de encontrar polimorfismos aumenta cuando lo que se amplifican son intrones en lugar de exones.
- **ESTs** (marcadores en loci expresados; Adams y *col.*, 1991). Muy similares a los anteriores, su particularidad radica en que los oligonucleótidos se han deducido a partir de la secuencia del cDNA, parcial o completamente secuenciado. El polimorfismo sólo se observa cuando los fragmentos amplificados muestran diferencias en los puntos de corte con alguna enzima de restricción, lo que hace que el método tenga unos costes elevados de tiempo y dinero.
- **SCARs** (regiones amplificadas caracterizadas y secuenciadas; Martin y *col.*, 1991). Esta técnica permite minimizar los inconvenientes de los RAPDs, aislando, clonando y secuenciando bandas de RAPDs concretas, para diseñar oligonucleótidos específicos. Aunque permite el desarrollo rápido de marcadores moleculares, el grado de polimorfismo obtenido es bastante bajo.
- **CAPSs** (secuencias polimórficas amplificadas y cortadas; Konieczny y *col.*, 1993). Los fragmentos amplificados se someten a una restricción enzimática y se separan en un gel de agarosa. Los polimorfismos se detectan por la presencia o ausencia de los lugares de restricción, siendo útiles para detectar cambios finos en una zona específica.
- **SNPs** (polimorfismos en nucleótidos únicos; Marth y *col.*, 1999, Brookes, 1999). Detectan cambios de una sola base en la secuencia de DNA, que se dan con una frecuencia alélica de como mínimo el 1%. Es el tipo de

marcadores más común en la actualidad para diferenciar alelos. En el genoma humano hay cerca de un millón de SNPs, que son altamente polimórficos y pueden ser usados como marcadores genéticos simples. Existen diferentes métodos para generar SNPs, como la secuenciación directa de un fragmento aleatorio de ADN, o de genes conocidos (Rafalski 2002), pero también se pueden identificar por desapareamientos puntuales, o por diferencias entre sitios de restricción.

Los microsatélites o SSRs

En el genoma existe un tipo de ADN, ubicuo y abundante, denominado "ADN microsatélite", que consiste en secuencias de mono-, di-, tri- y tetranucleótidos repetidos en tándem (aunque en ocasiones los motivos repetidos son algo más complejos). Estas secuencias pueden ser amplificadas mediante PCR utilizando como cebadores un par de oligonucleótidos flanqueantes. La diferencia en el número de repeticiones de estos motivos da lugar a polimorfismos de longitud.

La causa más probable de tales polimorfismos parece ser el efecto "resbalón" (slipage) durante la replicación del ADN, en el cual ya sea la cadena recién sintetizada o la cadena original se desliza sobre la otra en al menos un motivo, ocasionando un mal apareamiento entre las mismas (Schlotterer y Tautz, 1992; Moxon y Wills, 1999; Zane y col., 2002). Sin embargo, no se pueden descartar otras causas, como las deleciones o inserciones, ya sean en el microsatélite en sí o en las regiones que lo flanquean, alterando el tamaño del fragmento amplificado. Aunque el objetivo es diseñar cebadores específicos que revelen un marcador en un único locus, en ocasiones la duplicación de una secuencia microsatélite en otra región del genoma da lugar a marcadores microsatélites multiloci que se visualizan como varias bandas en una electroforesis, y que segregan independientemente (Jarne y Lagoda, 1996).

Las principales ventajas de los microsatélites respecto a otro tipo de marcadores son su alto nivel de polimorfismo (se pueden encontrar muchos alelos distintos, incluso entre genotipos estrechamente relacionados) y que presentan generalmente herencia mendeliana y codominante. Por todo ello son altamente informativos. Además, presentan otras características que hacen de ellos una herramienta ampliamente utilizada en la actualidad:

- son muy abundantes y están uniformemente dispersos en el genoma;
- son técnica y analíticamente simples;
- los datos obtenidos son altamente reproducibles, lo que facilita el intercambio de información entre laboratorios;
- es una técnica sensible: sólo se requieren pequeñas cantidades de ADN;
- son ampliamente aplicables: los loci son frecuentemente conservados entre especies relacionadas y algunas veces entre géneros.

Los principales inconvenientes de esta técnica son la inversión inicial de recursos económicos, y la experiencia técnica requerida para la clonación y la secuenciación de los SSRs, y para el diseño de los cebadores. Sin embargo, una vez que las secuencias de los cebadores son diseñadas y publicadas, el análisis de los loci microsatélites es práctico para cualquier laboratorio capaz de realizar las técnicas de PCR y electroforesis. En la actualidad se cuenta con una gran cantidad de microsatélites de arroz (Cho y *col.*, 2000). En la base de datos denominada Gramene (www.gramene.org), mantenida por la Universidad de Cornell (EEUU) en colaboración con otras instituciones, se puede consultar información sobre microsatélites de arroz y otros cereales. Además, la disponibilidad de la secuencia genómica completa del arroz es una valiosa fuente de nuevos marcadores SSR.

1.6. Caracteres y objetivos de mejora estudiados en esta tesis

Las poblaciones con las que se ha trabajado en este estudio forman parte del plan de mejora del Departamento del Arroz del IVIA, en el que se pretende ampliar el conocimiento sobre el control génico y la heredabilidad de los caracteres que influyen en la resistencia al encamado y en las características del grano (dimensiones y perlado).

1.6.1. El encamado

El encamado es uno de los principales problemas que presentan la mayoría de los cereales y algunas otras especies. En un determinado momento del desarrollo, muchas plantas se inclinan (lo que se conoce como recostado), llegando a acostarse en los casos más extremos (el encamado propiamente dicho). En las plantas encamadas disminuye la capacidad fotosintética y la

producción de materia seca de la parte superior de la planta (Hitaka, 1969); al doblarse y/o romperse los tallos se interrumpe el transporte de agua, nutrientes y asimilados a través del xilema y del floema, afectando al llenado del grano si ocurre en etapas tempranas (Kashiwagi y col., 2005). Además, si se produce en fases avanzadas de maduración, cuando aun están los campos inundados, el aumento de humedad favorece el crecimiento de hongos y otras enfermedades, y muchos de los granos germinan cuando la panícula entra en contacto con el agua (Weber y Ferh, 1966; Kono, 1995). Las pérdidas de la calidad se reflejan principalmente en la disminución del rendimiento industrial y en un aumento del porcentaje de granos defectuosos (germinados, manchados, inmaduros, etc.) (Aguilar, 2001). Finalmente, entorpece y retrasa la recolección y aumenta el coste de secado del grano (Hoshikawa y Wang, 1990).



Figura 8. Aspecto del encamado en parcelas de arroz.

Se pueden distinguir tres clases de encamado: el fisiológico o genético, el provocado por el ataque de enfermedades y el causado por deficientes prácticas culturales o por accidentes climáticos. Estos tres tipos se pueden presentar conjunta o aisladamente. Asimismo, según el estadio en que se presente, se puede diferenciar entre encamado temprano y tardío; el temprano es síntoma de una menor resistencia y causa mayores pérdidas, mientras que el tardío tiene lugar cerca de la cosecha, debido principalmente al incremento del peso de la panícula (Aguilar, 2001). Hitaka (1968) y Yagi (1983) diferencian también dos tipos de encamado según el daño causado: de tipo rotura y de tipo doblado. La rotura ocasiona mayores daños que el doblado, ya que los haces vasculares se rompen y esto afecta directamente a la producción.

El encamado se ve favorecido por una serie de factores:

- la acción del viento y de la lluvia,

- una alta densidad de siembra, que aumenta la longitud del tallo, disminuye su diámetro y el número de raíces y, por tanto, la fuerza de anclaje de la planta (Easson y col., 1993),
- el exceso de abonado nitrogenado y de lámina de agua, que aumentan la longitud de los entrenudos basales y el peso fresco de la parte aérea de la planta, haciéndola más susceptible (Pinthus, 1973),
- la acción de determinados hongos que atacan a la base del tallo (principalmente *Sclerotium oryzae*) (Matsuba, 2000; Aguilar, 2001).

Por el contrario, los niveles bajos de riego estimulan el desarrollo radicular y aumentan la resistencia al encamado. Estos factores afectan de forma distinta según variedades y según las zonas de cultivo. Por tanto, es recomendable la obtención y optimización de variedades de forma local.

Las variedades de arroz que se cultivan actualmente en la Comunidad Valenciana poseen en su conjunto unas características adecuadas para no ser muy proclives al encamado en nuestras condiciones de cultivo, aunque algunos aspectos relacionados con la morfología del tallo son claramente susceptibles de mejora desde el punto de vista agronómico. Entre ellos, y relacionados con el encamado, se encuentra la longitud y la fortaleza del tallo.

1.6.2. Genética de la resistencia al encamado

La resistencia al encamado es un objetivo importante en la mejora de los cereales, en general, y del arroz, en particular. Se han realizado estudios de resistencia al encamado desde los años 30 y se han hecho numerosos esfuerzos para encontrar y establecer un método de evaluación eficaz que permita seleccionar plantas para este carácter. La mayoría de los estudios publicados antes de 1980 se basaron en la determinación de las correlaciones entre diferentes caracteres morfológicos y la resistencia al encamado (Clark y Wilson, 1933; Brandy, 1934; Sato, 1957), mientras que publicaciones más recientes han intentado establecer modelos mecánicos de resistencia al encamado (Berry y col., 2004) o se han centrado en los componentes fisiológicos y químicos de los tallos y en su distribución histológica (Kokubo y col., 1989).

1.6.2.1. Métodos de evaluación e índices de encamado

La resistencia al encamado, como ocurre con otros caracteres agronómicos, es un carácter cuyo cribado en grandes poblaciones resulta dificultoso o económicamente costoso. Se han propuesto muchos métodos de evaluación del encamado: el método más frecuente es la evaluación visual en parcelas, bien como porcentaje de superficie afectada o bien mediante alguna escala que tiene en cuenta el nivel de inclinación, por ejemplo la descrita por Islam y col. (2007), que va desde el 1 (plantas erectas) al 9 (plantas completamente acostadas). Para determinar este estimador, algo subjetivo, se suelen sembrar un gran número de plantas de una línea (pura o casi pura), lo cual ocupa mucho espacio y no es un sistema aplicable como criterio de selección de plantas individuales en las primeras etapas de un programa de mejora. Como alternativa a la evaluación directa, la mayoría de los estudios han buscado caracteres morfológicos que estén correlacionados con el encamado y que pudieran usarse como parámetros de selección indirecta.

En este sentido, Mulder (1954), y posteriormente Kashiwagi e Ishimaru (2004) agruparon los caracteres relacionados con la resistencia al encamado en dos grupos: el peso de la parte superior (panícula y tallos) y la resistencia al empuje de la parte inferior del tallo (incluyendo el desarrollo del sistema radicular). Seko (1962) definió un índice de encamado como la relación entre el momento (peso x altura) de la parte de la planta que está por encima del entrenudo basal y la fuerza necesaria para la rotura de ese entrenudo, y mostró que era un buen indicador de la resistencia al encamado para las plantas de arroz maduras. Este índice se ha aplicado en numerosos estudios (Matsuzaki y col., 1970 y 1972; Ichii y Hada, 1983; Yagi, 1983, Ookawa y Ishihara, 1992, Amano y col., 1993). También se ha descrito la resistencia al empuje como un índice de la resistencia al encamado, en maíz y en arroz (Idris y col., 1975; Terashima y col., 1992). Según Terashima y col. (1994) y Won y col. (1998), la resistencia al empuje está positivamente correlacionada con el grosor del tallo y el peso de la parte subterránea de la planta. Según Chandraratna (1964), los componentes de la resistencia al encamado son esencialmente la altura y la fuerza del tallo, aunque también está negativamente correlacionada con el peso de la panícula. Liang y col. (2000) matizaron estos términos, dando mayor importancia a la longitud y la fuerza de los entrenudos basales del tallo; y Aguilar (2001) relacionó la resistencia al encamado con cuatro características de la planta: la altura, el peso de las

panículas, el nivel de desarrollo del sistema radicular y la robustez y elasticidad de las vainas de las hojas inferiores. Otros autores como Atkins (1938) y Zuber y *col.* (1999) han afirmado que el diámetro y el peso del tallo están correlacionados con la resistencia al encamado y con la fuerza de rotura del tallo; también Xiao y *col.* (2002) constataron que la fuerza del tallo es el índice más importante para la selección de la resistencia al encamado en programas de mejora, de acuerdo con Ogata y *col.* (2000), que comprobaron que plantas seleccionadas por la fuerza de su tallo, producen descendencia que se encama poco en siembra directa. Zhang y *col.* (1999) encontraron una correlación positiva entre el grosor de los entrenudos basales, la longitud y la fuerza del tallo, y la resistencia al encamado. Por otra parte, se han encontrado otros factores como el contenido de celulosa, lignina y silicio, y la distribución de carbohidratos en el tallo, que influyen en su resistencia mecánica (Idris y *col.*, 1975; Kokubo y *col.*, 1989; Ookawa y Ishihara, 1993; Takahashi, 1995; Taylor y *col.*, 1999; Jones y *col.*, 2001; Ma y *col.*, 2002; Tanaka y *col.*, 2003; Li y *col.*, 2003a; Kashiwagi e Ishimaru, 2004; Kashiwagi y *col.*, 2008).

Por tanto, el encamado es un carácter cuantitativo muy complejo y que está determinado por varios caracteres, también cuantitativos; hasta el momento no hay ningún método o índice fiable que mida o estime el valor de la resistencia al encamado.

Veremos a continuación con más detalle algunos de los parámetros que parecen tener mayor relevancia, y en los que nos hemos fijado en el desarrollo de esta tesis; no se ha incluido el desarrollo del sistema radicular porque, aunque algunos autores lo consideran un factor importante en la resistencia al encamado, se trata de un carácter cuya medición es muy costosa y no parece aplicable en un programa de mejora.

1.6.2.2. La altura de la planta

La obtención de variedades semienanas de arroz a principios de los años 60, con la introducción del gen *sd-1*, supuso el mayor éxito en la mejora de la resistencia al encamado y fue uno de los factores responsables de los grandes incrementos en la producción de arroz y de trigo en la “Revolución verde” (Chandler, 1969; Keller y *col.*, 1999; Khush, 1999); la disminución de la altura redujo el impacto de la parte superior de la planta en la parte basal, que es la zona en la que se doblan las plantas. Desde entonces, la disminución de la altura de la planta ha sido el principal objetivo en la búsqueda de resistencia al encamado, ya

que, generalmente, las plantas más bajas se encaman menos. En este sentido, se encontró una alta correlación entre la altura y la resistencia al encamado en cebada (Murthy y Rao, 1980; Stanca y *col.*, 1979) y trigo (Atkins, 1938).

En el arroz, la altura presenta heredabilidades entre el 23% y el 100% (Perera y *col.*, 1998) y está controlada tanto por genes cualitativos como por loci cuantitativos; Huang y *col.* (1996) recogen en su trabajo 13 genes responsables del semienanismo que se localizan en el mapa de ligamiento del arroz: *d-10*, *sd-1* y *d-18*, en el cromosoma 1; *d-5*, *d-30* y *d-32*, en el cromosoma 2; *d-56*, en el cromosoma 3; *d-31* y *d-11*, en el cromosoma 4, *sdg*, en el cromosoma 5, *d-9*, en el cromosoma 6; *d-27*, en el cromosoma 11; y *d-33*, en el cromosoma 12. La longitud del tallo está determinada por el número de los entrenudos (entre 4 y 6) y su longitud, y ambos dependen de la variedad y de las condiciones ambientales (Wang y Li, 2005); se han identificado varios genes de enanismo que afectan directamente a la elongación de los entrenudos (Takeda y Takahashi, 1969). Se han encontrado más de 60 mutantes de enanismo y algunos de los genes que dan lugar al fenotipo enano se han clonado y caracterizado (Futsuhara y Kikuchi, 1997; Hong y *col.*, 2003; Sakamoto y *col.*, 2004). Destaca el gen de semienanismo *sd-1* (clonado por Monna y *col.*, 2002; Sasaki y *col.*, 2002; Spielmeyer y *col.*, 2002), que parece ser el principal responsable de la reducción de la altura en las variedades modernas; este gen se hereda como alelo recesivo (Aquino y Jennings, 1966; Foster y Rutger, 1978; Mackill y Rutger, 1979), y se ha demostrado que corresponde al locus de la GA-oxidasa, con el efecto pleiotrópico de respuesta al abonado nitrogenado sin aumentar el crecimiento (Avakyan, 2006). Pero muchos de estos mutantes no se utilizan para la mejora del arroz, ya que sus efectos pleiotrópicos dan lugar a fenotipos aberrantes relacionados con el desarrollo de la panícula y la producción (Matsuo, 1952; Seko, 1962; Watanabe, 1985; Sunohara y *col.*, 2003). Sin embargo, han sido de gran utilidad en el estudio del control genético de la longitud de los entrenudos y del tallo. Aparte de estos mutantes, numerosos estudios han aislado genes relacionados con la altura en el arroz: se ha clonado el gen *RGA1* (proteína G heterotrímica; Ashikari y *col.*, 1999; Fujisawa y *col.*, 1999) implicado en la transducción de señales de la ruta de las GAs (giberelinas), y el gen *OSH15*, que actúa en el meristemo apical del brote y finalmente en la altura de la planta (Sato y *col.*, 1999).

Por otra parte, se han encontrado muchos QTLs que afectan a la variación de la altura (algunos alélicos a los genes de enanismo o semienanismo) (Li y *col.*,

1995; Xiao *y col.*, 1995, 1996; Huang *y col.*, 1996; Tan *y col.*, 1996; Wu *y col.*, 1996; Lu *y col.*, 1996; Zhuang *y col.*, 1997; Kohn *y col.*, 1997; Xiao *y col.*, 1998; Yan *y col.*, 1998a, 1999; Xiong *y col.*, 1999; Moncada *y col.*, 2001; Ishimaru *y col.*, 2001; Hittalmani *y col.*, 2002; Yu *y col.*, 2002b; Septiningsih *y col.*, 2003; Thomson *y col.*, 2003; Li *y col.*, 2003b; Mei *y col.*, 2003; Kashiwagi *y Ishimaru*, 2004; Reddy *y col.*, 2005; Yan *y col.*, 2007; Zhu *y col.*, 2008). Huang *y col.* (1996) compararon los QTLs de altura obtenidos en el análisis de cinco poblaciones de arroz con los genes cualitativos descritos anteriormente, comprobando que algunos de los QTLs se localizaban muy cerca de los genes mayores de semienanismo.

Aunque está empíricamente demostrado que variedades mejoradas con genes de semienanismo son más resistentes al encamado que las variedades antiguas más altas, no en todos los casos se conoce cómo estos genes contribuyen a mejorar la resistencia al encamado (Murai *y col.*, 2004). Además, la altura no es el único factor decisivo de la resistencia al encamado, pues la susceptibilidad difiere entre plantas con alturas similares (Ookawa *y Ishihara*, 1992; Easson *y col.*, 1993; Islam *y col.*, 2007). Por otra parte, la reducción de la altura no debe de ser drástica, ya que una planta demasiado baja tiende a ser menos productiva y puede tener problemas en las primeras fases de cultivo y en la recolección: hay una altura óptima para obtener la máxima capacidad fotosintética, por debajo de la cual se produce una caída en la producción (Flintham *y col.*, 1997). Se han encontrado correlaciones positivas de la altura y la longitud de la panícula (carácter que afecta a la productividad), con el peso del grano (Thomson *y col.*, 2003). Duan *y col.* (2004) han sugerido que los tallos de longitud media confieren mayor resistencia al encamado que los cortos. Las variedades de talla baja (semienanas) producen menos paja y responden mejor a altas dosis de abonado nitrogenado, que suele traducirse en un mayor potencial productivo. En cambio, son menos competitivas con las malas hierbas y más propensas a los ataques de pájaros y roedores (Aguilar, 2001).

1.6.2.3. Características del tallo

El encamado se produce cuando el tallo se dobla o se rompe en los entrenudos basales. Por tanto, factores tales como la morfología (grosor y robustez), las características anatómicas, los factores fisiológicos y componentes químicos del tallo y los entrenudos basales juegan también un papel importante en

la resistencia al encamado. A continuación, revisaremos los estudios llevados a cabo en relación con estos factores.

Características morfológicas

Según Seko (1962) y Hoshikawa y Wang (1990), el encamado normalmente se produce en los entrenudos basales. De hecho, según Ogi y *col.* (1993) el gen *sd-1* inhibe la elongación de los entrenudos basales más que la del resto del tallo y esto contribuye a la resistencia al encamado. Zhu y *col.* (2008) estudiaron QTLs de longitud, diámetro y grosor de la pared de los entrenudos basales, sugiriendo que un aumento de estas características mejoraría la resistencia al encamado. En general, una planta de tallos robustos cuyas células parenquimáticas sean firmes y compactas, tiene mayor resistencia al encamado, pero es la parte basal donde se encuentra el centro de gravedad de la planta (y donde se aplica el momento ejercido por la parte superior de la planta). Variedades con poca fuerza en la parte basal son más susceptibles al encamado en campo, incluso si se trata de líneas semienanas (Terashima y *col.*, 1992). Varios estudios han encontrado correlación positiva entre el diámetro del tallo y el grado de resistencia al encamado en trigo y soja (Mancuso y Caviness, 1991; Zuber y *col.*, 1999 y Tripathi y *col.*, 2003) o el esfuerzo de rotura en trigo y arroz (Atkins, 1938; Ohe y *col.*, 1996). Esta asociación parece darse sólo en lo referente a los entrenudos basales (Xiao y *col.*, 2002). De hecho, Keller y *col.* (1999) comprobaron que dos QTLs de resistencia al encamado correspondían a QTLs de grosor del tallo en una población híbrida de trigo y espelta. Sin embargo, Kashiwagi y *col.* (2008) demostraron que es necesaria una combinación de varios QTLs que aumenten el diámetro del tallo de arroz para mejorar la resistencia al encamado.

Otra característica morfológica del tallo es su elasticidad o capacidad para recuperar el estado inicial después de haber sido sometido a un desplazamiento. Si una planta se dobla por el viento (u otro fenómeno puntual), una buena elasticidad de los tejidos permite soportar el doblado sin romperse y volver, al menos en parte, a la posición inicial. Esta característica no es igual en todas las variedades: en ocasiones, se observa que la acción del desplazamiento dobla el tallo (se trata de variedades poco elásticas), en otras tiene como respuesta un retorno rápido y enérgico con peligro de rotura; se trata de variedades poco elásticas. Por el contrario, una respuesta que consiste en un movimiento en arco

amplio es propia de variedades elásticas. Aliaga y col. (1986) encuentran que la flexibilidad del tallo no es un fenómeno correlacionado con el grosor de éste, sino con la longitud del entrenudo basal (y con el ancho de la vaina foliar).

Estructura anatómica

El tallo realiza funciones de transporte, almacenamiento y soporte de la planta. En su sección transversal encontramos (de dentro hacia fuera): núcleo, parénquima, haces vasculares, esclerénquima y epidermis. La fuerza del tallo es una cualidad anatómica determinada por la cantidad, distribución y composición del esclerénquima. Cuanto más grueso es el tallo, más esclerénquima posee (Chakraborty, 2001). El estudio de Li y col. (2003a) sobre la estructura anatómica del tallo de arroz comprobó que la diferencia en fuerza entre un tallo normal y uno quebradizo se debe a las diferencias en el esclerénquima y los haces vasculares.

Factores fisiológicos y componentes químicos

Muchos estudios indican que la resistencia al encamado no sólo se debe a las características morfológicas y anatómicas, sino que está también asociada a procesos fisiológicos y componentes químicos. Durante el proceso de llenado del grano, una parte de los carbohidratos que se encuentran acumulados en tallos y hojas son transportados hacia las panículas; esta reducción del contenido en carbohidratos en las partes inferiores de la planta hace que ésta sea más susceptible al encamado en este momento del desarrollo. Un retraso en la senescencia alarga la actividad fotosintética y la capacidad de acumular carbohidratos durante el llenado del grano, retrasando la movilización de carbohidratos del tallo al grano, de modo que las plantas son menos susceptibles al encamado pero también menos productivas. De hecho, cultivares de trigo con gran resistencia al encamado movilizan pequeñas cantidades de almidón almacenadas en el grano (Yang y col., 2000) Kashiwagi e Ishimaru (2004) detectaron en el cromosoma 5 un locus, *pr15*, responsable de la resistencia al empuje de la parte basal del tallo; posteriormente, Ishimaru y col. (2008) comprobaron que las NILs que contenían el locus *pr15* mejoraban la resistencia al empuje de la parte basal ya que, por un lado, retrasan la degradación de la clorofila en las hojas y, con ello, la senescencia; y, por otro, reacumulan mayor cantidad de carbohidratos en el tallo una vez el llenado del grano, sin afectar con ello a la producción. Un alto contenido en carbohidratos de los entrenudos basales y particularmente la capacidad de éstos para reacumular almidón durante los

últimos estadios de maduración contribuye a una mayor resistencia al encamado (Sato, 1957; Takahashi, 1960; Matsuzaki y col., 1972; Takaya y Miyasaka, 1983; Yagi, 1983; Taylor y col., 1999; Yang y col., 2001). De hecho, cultivares de trigo con gran resistencia al encamado movilizan pequeñas cantidades de almidón almacenadas en el grano (Yang y col., 2000). Recientemente Kashiwagi y col. (2010) han mostrado los efectos de *prl5* en la resistencia al encamado de plantas sometidas a diferentes concentraciones de abonado; la aplicación de fertilizantes aumenta la producción pero disminuye la resistencia al encamado, ya que alarga los tallos y disminuye el diámetro de los entrenudos basales. Sin embargo, *prl5* aumenta la concentración de carbohidratos en los entrenudos basales en la maduración reduciendo el encamado. Por otra parte, Ishimaru y col. (2008) identificaron otro locus en el cromosoma 5 que mejora la resistencia al encamado tras un tifón (*Irt5*) al aumentar la rigidez de la parte superior del tallo como resultado de la acumulación de carbohidratos.

1.6.2.4. Número de hijuelos y panículas

Otros componentes importantes del peso de la parte aérea de la planta son el número de hijuelos y de panículas, así como el peso de éstas. El número de hijuelos es uno de los factores claves de la producción, ya que determina el número de panículas (Rao y col., 1997; Yan y col., 1998b). Se trata de un carácter cuantitativo, notablemente afectado por diversos factores ambientales: fertilización, densidad de plantación, luz, temperatura y disponibilidad hídrica, lo cual hace que tenga una heredabilidad media (30-50%, según Xiong, 1992). Según Li (1977) y Perera y col. (1986), tanto el número de hijuelos como el número de panículas por planta están controlados por genes con efectos aditivos, dominantes y epistáticos, mientras que Murai y Kinoshita (1986) y Ahmad y col. (1986) encontraron que los efectos aditivos son más importantes que los no aditivos. La altura de la planta está negativamente correlacionada con el número de hijuelos (Huang y col., 1996; Yan y col., 1988b; Asai y col., 2002; Hong y col., 2003). Sin embargo, ya que una disminución significativa del número de hijuelos, y sobre todo, del peso de la panícula comprometería la productividad, en los planes de mejora se busca aumentar la resistencia al encamado sin que estos componentes se vean seriamente afectados. Una excepción es el "Nuevo Tipo de Planta" diseñado en el IRRI, en el que se han buscado pocos tallos, pero gruesos y con resistencia al encamado (Khush, 2001), aunque posteriormente se comprobó que este modelo no permite alcanzar los objetivos de productividad buscados (Peng y col., 2005).

1.6.2.5. Peso del grano

Un componente importante del peso de la parte aérea es el peso de las panículas, y uno de los factores que lo determinan es el peso del grano. El peso de la panícula está negativamente correlacionado con la resistencia al encamado y su heredabilidad oscila entre el 15 y el 81% (Lawrence y Senadhira, 2000). El peso del grano, según Chauhan (1998), es un carácter altamente heredable. Muchos estudios independientes han identificado QTLs asociados con el peso del grano y, a su vez, con las dimensiones de éste. Uno de los más destacados, que afecta al peso y la longitud del grano, se ha localizado en la región pericentromérica del cromosoma 3 en al menos diez poblaciones inter e intraespecíficas (Li y col., 1997; Yu y col., 1997; Xiao y col., 1998; Redoña y Mackill, 1998; Kubo y col., 2001; Xing y col., 2001, 2002; Moncada y col., 2001; Brondani y col., 2002; Thomson y col., 2003; Li y col., 2004a), y ha sido localizado por mapeo fino (Li y col., 2004b). También destaca el QTL *Gw8.1*, que controla la forma y el peso del grano, en el cromosoma 8 (Xie y col., 2006); y *GW2*, un QTL mayor que controla la anchura y el peso del grano, en el cromosoma 2 (Song y col., 2007). Además, son muchos los mutantes de longitud del grano que se han utilizado para detectar genes que regulan el peso del grano cambiando su longitud. Por un lado, *Mi* y *mik* dan lugar a granos muy cortos (Takamure y Kinoshita, 1994; Takeda y Saito, 1977); por otro lado, los genes *lk1*, *Lk2*, *Lkf*, *lki1* y *lki2* dan lugar a granos largos (Takamure y col., 1995; Takeda y Kato, 1992; Takeda y Saito, 1980).

1.6.2.6. Maduración

Adecuar la duración del ciclo del arroz a las condiciones de cultivo de cada zona es un objetivo importante en los programas de mejora. En nuestro plan de mejora, la reducción del tiempo de maduración supone evitar las condiciones de viento y lluvia que suelen darse en la zona mediterránea durante el mes de septiembre, y que pueden solaparse con el periodo de siega, a principios de este mes: por un lado, porque estos fenómenos atmosféricos favorecen el encamado; y por otro, porque las lluvias retrasan el secado del grano y la cosecha, y si son seguidas de viento seco, pueden fisurar el grano, rompiendo más en molino (disminución del rendimiento industrial). Como se ha comentado anteriormente, el ciclo del arroz comprende las etapas vegetativa, reproductiva y de maduración; la duración de cada etapa varía en función del fotoperiodo, la temperatura y la

intensidad de la luz. Además, la sensibilidad a estos factores ambientales es diferente en cada genotipo. Los estudios llevados a cabo para identificar los genes responsables de la maduración se han centrado en dos aspectos: la duración del periodo vegetativo (que termina el número de hijuelos, altura, etc.) y la sensibilidad al fotoperiodo. Se han identificado diversos genes mayores que controlan la sensibilidad al fotoperiodo: los genes *Se1*, *Se3* y *Se5* situados en el cromosoma 6, y *E1* y *E3* en los cromosomas 7 y 3, respectivamente (Yokoo y col., 1980; Yokoo y Okuno, 1993; Causse y col., 1994; Okumoto y col., 1996; Okumoto y Tanisaka, 1997; Kinoshita, 1998). Se han identificado también muchos QTLs que controlan la fecha de floración (Li y col., 1995; Xiao y col., 1995; Lin y col., 1996; Lu y col., 1996; Xiao y col., 1996; Yano y col., 1997; Xiong y col., 1999). Los QTLs mayores con efectos relativamente grandes sobre la fecha de floración corresponden a genes de sensibilidad al fotoperiodo identificados previamente; Yano y col. (2000) definieron una región genómica de 12kb como candidata a albergar el locus *Hd-1*, que es alélico a *Se1*, y que tiene una alta homología con *CONSTANTS*, un gen implicado en la floración de *Arabidopsis*. También, *Hd1* y *Hd3* en el cromosoma 6, *Hd2* y *Hd4* en el 7 y *Hd5* en el 8 (Yano y col., 1997; Yamamoto y col., 1998).

Sin embargo, la duración final del ciclo de cultivo es la suma de los periodos hasta la floración y hasta la maduración propiamente dicha, es decir lo que tarda en llenarse y madurar el grano. Estas dos fases no tienen por qué ser proporcionales y pueden estar controladas por mecanismos distintos e independientes. Por ello existen variedades de floración temprana que tienen una larga fase de maduración, y viceversa. Esta segunda fase no ha sido estudiada en profundidad, ya que la mayoría de los trabajos se han centrado en la etapa de floración. Aunque estudios que han evaluado ambos caracteres, periodos de floración y de maduración, han determinado que están positivamente correlacionados, los escasos análisis de QTLs muestran que existen QTLs que controlan únicamente la duración de la segunda fase, sin afectar a la primera (Xiao y col., 1996; Xiao y col., 1998; Septiningshi y col., 2003). En este trabajo se ha estudiado la duración del ciclo completo, ya que a nivel práctico interesa obtener variedades que estén listas para la siega antes de las primeras lluvias de septiembre, independientemente de cual sea la duración de cada una de las fases del ciclo.

1.6.2.7. Porte

Cuando una planta se encama ejerce un efecto dominó sobre las que están alrededor, ya que éstas han de soportar, además de su propio peso, el de la planta inclinada y acaban encamándose también; por eso lo que se suele observar en campo no es una planta encamada sino una extensión de plantas encamadas. Cuanto mayor es la densidad de siembra, mayor es la probabilidad de que las plantas estén en contacto físico y de que si una planta empieza a inclinarse acabe afectando a una extensión, mayor o menor, de plantas. En este sentido, el hábito de crecimiento de la planta puede ser un carácter que afecte al encamado; es decir, si los tallos crecen verticalmente habrá menos contacto con las plantas cercanas que si crecen inclinados cruzándose con los de las plantas de alrededor.

En este trabajo hemos incluido el porte, es decir, el hábito de crecimiento de las plantas, como un factor que puede afectar a la tendencia al encamado; nuestra hipótesis es que plantas más cerradas, cuyos tallos crezcan verticalmente, serán más resistentes al encamado. Sin embargo, no hemos encontrado estudios de resistencia al encamado que incluyan este carácter, excepto en un grupo japonés (Kashiwagi e Ishimaru, 2004) que relacionan el carácter anchura de la corona (“crown width”) con la resistencia al empuje. Sin embargo, la anchura de la corona depende de la altura de la planta ya que, con un mismo ángulo de inclinación, según la longitud del tallo la corona se abrirá más o menos (Figura 9). En este sentido, parece que el ángulo de los tallos con la vertical da una mejor idea del hábito de crecimiento de las plantas.

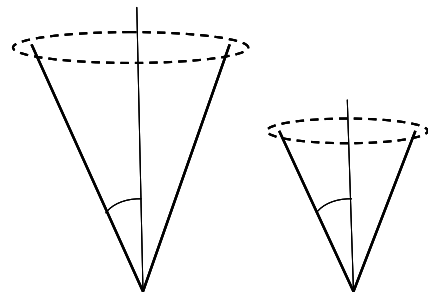


Figura 9. Diferencias en la anchura de la corona según la altura para un mismo ángulo de inclinación.

Según Wang y Li (2005), la altura, la capacidad de ahijamiento, la morfología de la panícula y el ángulo de los tallos con la vertical son componentes muy importantes de la arquitectura de la planta, y contribuyen en gran medida a la producción. Las plantas muy compactas son más susceptibles al ataque de los

patógenos, especialmente los fúngicos, ya que se favorece la transmisión por contacto de los tejidos y que se mantenga una alta humedad; y también son ineficientes en el uso de la energía solar. Pero las plantas que crecen demasiado abiertas ocupan mucho espacio, y la producción por superficie es menor. En las variedades modernas se ha seleccionado el tipo intermedio: abierto en los primeros estados de desarrollo para favorecer la eficiencia fotosintética, y compacto cuando empieza la elongación de los tallos, para retrasar el inicio de la senescencia debido al sombreado entre las plantas adyacentes. Los análisis genéticos del ángulo del tallo muestran que es un carácter cuantitativo (Xu y Shen, 1993). Se ha localizado un QTL de mayor efecto en el porte en el cromosoma 9 (*Ta*; Yamamoto y col., 1997a; Li y col., 1999; Yan y col., 1999; Qian y col., 2001; Chen y col., 2008), que exhibe dominancia; estos estudios muestran que los alelos responsables de la abertura de la planta provienen de arroces *indica*, lo que sugiere que este gen está asociado con las diferencias de porte entre las subespecies *indica* y *japonica*. Además de este gen se han encontrado diversos QTLs con efectos menores en el fenotipo. Por otra parte, se ha encontrado una mutación recesiva del gen *LAZY1*, situado en el cromosoma 11, que altera la distribución de auxinas en los brotes, disminuyendo el geotropismo negativo lo que da lugar a un fenotipo de porte muy abierto (Abe y col., 1996; Li y col., 2007; Yoshihara y Iino, 2007), independientemente de la densidad de plantación.

1.6.3. La calidad en arroz

La calidad de un alimento se puede definir como el conjunto de atributos que identifican los lotes individuales del producto y determinan el grado de aceptación del mismo por el consumidor (Kramer y Twigg, 1970). En el caso del grano de arroz los gustos y preferencias son dispares según factores sociales y culturales (tales como costumbres culinarias), factores individuales (grado de sensibilidad y modernidad del consumidor), atributos del grano (tamaño, aspecto, sabor, textura, pegajosidad, etc.), valores añadidos al producto (fácil cocción, tipo de envase) o relacionados con la imagen de mercado (marca) (Hauteville y col., 1997), de forma que lo que es un producto de calidad para una comunidad puede ser inaceptable para otra. Por ejemplo, en EEUU, Canadá, Europa Occidental y Oriente Medio se prefiere el arroz de grano largo y cristalino, firme y suelto una vez cocido. Otros, por el contrario, prefieren el arroz de grano corto, redondo y perlado, menos firme cocido, pero que absorbe en mayor grado los condimentos del agua de cocción.

A diferencia de otros cereales, casi todo el arroz producido se consume como grano entero. De ahí que sus características físicas como forma, tamaño, uniformidad, color y grado de defectos sean muy importantes (Webb, 1985) y se tengan muy en cuenta para valorar la calidad de un arroz (Malik y Chaudhary, 2001; Wang y col., 2003) y en los programas de mejora de variedades (Badawi y El Hissewy, 2001; Rutger y col., 2001; Zelensky, 2001; Guimarães y col., 2001). También son fundamentales los aspectos referentes a las características fisicoquímicas que determinan el comportamiento en la cocción, sin olvidar los parámetros que determinan el rendimiento industrial. Pero en esta tesis nos hemos centrado en las dimensiones y el grado de perlado del grano.

1.6.3.1. Tamaño y forma del grano de arroz

Como se muestra en la tabla 2, las normativas definen el tamaño del grano en base a su longitud (L), anchura (A) y la relación entre ambos parámetros (L/A). Estos valores biométricos del grano son atributos muy condicionados por los factores genéticos (Kaosa-ard y Juliano, 1991; Saif-ur-Rasheed y col., 2002), variando muy poco según la procedencia y año de cultivo (Carreres, 1988; León, 2002). Las primeras referencias bibliográficas sugerían que la herencia de las dimensiones y forma del grano es simple, pero posteriores trabajos han demostrado que estos caracteres tienen una herencia cuantitativa. En el Departamento del Arroz del IVIA se han estudiado estos parámetros en varias poblaciones, obteniéndose valores de heredabilidad (H^2) entre 85 y 99% (datos no publicados). Los estudios de QTLs detectan de dos a seis loci que afectan a L, de tres a siete para A, y de dos a seis controlando L/A, así como interacciones epistáticas afectando a L y L/A. El principal QTL para L, que se localiza en el cromosoma 3, y coincide en varias poblaciones y ambientes, parece corresponder a un gen mendeliano recesivo (*gl-3*), y explica entre un 13 y un 51% de la variación fenotípica (Wan y col., 2006); el resto de loci para este carácter representan entre un 5 y un 31% de la variación, y se localizan con mayor frecuencia en los cromosomas 1, 6 y 10. Respecto a A, el QTL de mayor efecto se encuentra en el cromosoma 5, explicando hasta un 52% de la variación, mientras que el resto de loci representan entre un 5 y un 34%, y se sitúan principalmente en los cromosomas 1, 2, 3 y 6. En el caso de L/A, los QTLs de mayor efecto suelen coincidir con los más importantes para L, pero principalmente con los responsables de determinar A (Huang y col., 1997; Redoña y Mackill, 1998; Tan y

col., 2000; Yoshida y *col.*, 2002; Aluko y *col.*, 2004; Li y *col.*, 2004a; Rabiei y *col.*, 2004; Jiang y *col.*, 2005; Wan y *col.*, 2005 y 2006).

Las dimensiones y forma del grano se encuentran entre las principales características a tener en cuenta en cualquier programa de mejora, y se fijan pronto en las primeras generaciones segregantes (Jennings y *col.*, 1979). Para su medida se utilizaban micrómetros, calibradores, o proyectores con aumento de la imagen a escala; en la actualidad se utiliza el análisis digital de la imagen (León, 2002), relativamente preciso y laborioso, por lo que los marcadores moleculares ligados a los principales QTLs pueden ser de utilidad en la selección. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en estas mismas zonas se localizan QTLs para otros caracteres de interés, por lo que hay que considerar cuidadosamente la elección de marcadores para M.A.S.

1.6.3.2. Perlado del grano de arroz

Esta característica hace referencia a la presencia o no de zonas opacas en el endospermo (perla). Esta opacidad es causada por el empaquetamiento poco compacto de los gránulos de almidón y proteína. El grano perlado es más frágil y se rompe más en el molino que el grano cristalino, con gránulos poliédricos y empaquetados apretadamente (Webb, 1991); aunque este efecto sobre el rendimiento industrial parece ser menor en granos redondos y medios, sobre todo en las variedades recientes, seleccionadas para al resistencia a roturas. No debe confundirse el perlado con el grano completamente opaco, característico de los arroces “glutinosos” o “waxy” (Ikehashi y Khush, 1979) o con el aspecto similar de los granos inmaduros o yesosos.

La aceptabilidad de un grano cristalino o perlado depende de cada país. Aunque las zonas opacas desaparezcan durante la cocción y no afecten el sabor, generalmente, los países que consumen arroz de tipo *índica* prefieren granos con el endospermo libre de perla y claramente translúcido. En dichos países, la presencia de perla desmerece el valor comercial y por lo tanto es eliminada en los programas de mejora, con la excepción de las variedades para producción de “*sake*”, que se caracterizan por sus granos grandes y perlados (Yoshida y *col.*, 2002). En otras partes, como en España e Italia, la presencia de perla es apreciada por el consumidor. En Australia se aprecian ambos tipos de grano.

El perlado depende de las condiciones climáticas (Juliano, 1985) y de cultivo (Webb, 1991), así como de las dimensiones del grano (Raju y Srinivas, 1991). Sin embargo, el tipo e incidencia de perla es un factor altamente heredable y se considera una característica varietal (Raju y Srinivas, 1991). Wan y *col.* (2005) han observado una heredabilidad del 83%, mientras que en los estudios del IVIA varias poblaciones han mostrado valores de H^2 entre el 30 y el 99% (aunque en algunos casos, las h^2 han alcanzado el 98%), tanto para el porcentaje de granos perlados como para el tamaño de perla. Los primeros estudios indicaban que el perlado es un carácter monogénico y dominante (Nagai, 1958; Nadaf y *col.*, 1993), y los análisis de QTLs coinciden en cuanto a que se identifica un locus principal para el porcentaje de granos perlados que explica hasta el 87% de la variación fenotípica, en la misma región del cromosoma 5 que contiene el principal QTL para la anchura del grano (Tan y *col.*, 2000; Yoshida y *col.*, 2002; Xing y *col.*, 2002). Sin embargo, éstos y otros autores (He y *col.*, 1999; Li y *col.*, 2004a; Wan y *col.*, 2005) han identificado también otras regiones genómicas con efectos sobre el perlado, destacando los cromosomas 1, 8 y 12, que contienen además QTLs que determinan el tamaño de la perla. Kang y *col.* (2005) identificaron un gen candidato para el control del perlado: una mutación en la piruvato ortofosfato dikinasa (PPDK) provoca la presencia de perla central, con gránulos de almidón de empaquetamiento suelto, e interpretan que esta PPDK citosólica actuaría modulando el metabolismo del carbono durante el proceso de llenado del grano.

Aunque la perla tiene diferentes denominaciones según su posición en el endospermo sea central, ventral, dorsal u ocupando todo el grano excepto la periferia, para la evaluación del material de mejora es conveniente agruparlas todas bajo un mismo concepto. El perlado se determina generalmente por inspección visual directa de los granos: descascarillados y situados sobre una fuente luminosa, en las primeras generaciones de selección; o granos elaborados, en generaciones avanzadas. Se utilizan diversas escalas para evaluar su tamaño, posición en el endospermo y grado de incidencia (Ikehashi y Khush, 1979; León, 2002). La elección de marcadores moleculares adecuados a cada población podría contribuir a la efectividad del proceso de selección.



2. Objetivos

2. Objetivos

La mejora de los caracteres agronómicos cuantitativos es compleja, costosa y, a menudo, poco eficiente; máxime cuando el programa de mejora debe tener en cuenta diversos caracteres simultáneamente, como es habitual. Conocer el control genético de los diferentes caracteres a considerar, así como las interacciones entre ellos, puede ayudar al mejorador en el proceso de selección. Aunque son abundantes los estudios genéticos sobre los principales caracteres agronómicos del arroz, se dispone de muy poca información sobre el comportamiento de éstos en el germoplasma y las condiciones de cultivo del ámbito mediterráneo. El programa de mejora del Departamento del arroz del I.V.I.A. tiene como uno de sus objetivos limitar las pérdidas ocasionadas por el encamado de las plantas. La estrategia general para mejorar la resistencia al encamado ha sido la obtención de variedades de baja estatura; pero continuar con la reducción de la altura puede acarrear una disminución del rendimiento. Por ello, nos hemos planteado el análisis conjunto de la elongación y la producción, así como de ciertos caracteres estructurales que puedan contribuir a aumentar la resistencia al encamado, o servir de índice para una selección indirecta y temprana. Por otra parte, dados los requerimientos de alta calidad de grano en el mercado español, hemos considerado también el estudio de algunos de los parámetros de calidad más importantes. Por todo ello, en esta tesis se plantean los siguientes objetivos generales:

- estudiar el comportamiento y el control genético de diferentes caracteres relacionados con la resistencia al encamado del arroz, así como parámetros de calidad del grano, en dos poblaciones que comparten el mismo parental femenino, y en dos condiciones de cultivo: las balsetas en que generalmente se realiza la selección de las primeras generaciones segregantes, y parcelas de campo; y
- analizar si es posible aumentar la eficiencia en la selección de estos caracteres: idoneidad de la selección en F₂ e identificación de las regiones cromosómicas más importantes en la determinación de estos caracteres, y que puedan ser apropiadas para un programa de selección asistida por marcadores (M.A.S.)

Para ello se han abordado los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Estimación de los componentes de la varianza y cálculo de la heredabilidad de los caracteres estudiados, así como la correlación entre los mismos, en dos

poblaciones F2 y en dos ambientes (campo y balsetas), y en las correspondientes F3 en campo;

2.- estima de la respuesta a la selección aplicada en F3 a varios caracteres relacionados con la resistencia al encamado;

3.- análisis con marcadores SSR y construcción del mapa de ligamiento de las poblaciones F2;

4.- identificación y caracterización, a partir de los datos de genotipado y fenotipado de las poblaciones, de los QTLs implicados en los caracteres estudiados;

5.- análisis de la correspondencia entre el estudio cuantitativo y de QTLs (tipo de acción génica y correlaciones);

6.- identificación de posibles mejoras en el proceso de selección que se realiza en la actualidad en el Departamento, tanto en lo referente a criterios de selección, momento de aplicación, etc., como a la conveniencia de utilizar M.A.S. en algunos caracteres (y, en su caso, propuesta de marcadores candidatos):



3. Materiales y Métodos

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

Este trabajo se ha realizado sobre dos poblaciones segregantes, obtenidas a partir de dos cruzamientos que comparten el mismo parental femenino: la línea llamada (Z9 x Leda)-2; se trata de una línea F6 generada en el IVIA a partir de un cruce de la línea de mejora del IRRI IR66155-2-1-1-2, a la que se ha denominado Z9, que combina grandes panículas con tallos gruesos y poco numerosos, y un alto potencial productivo; sin embargo, Z9 no se ha mostrado directamente utilizable en nuestra zona, ya que tiene el grano pequeño y una acusada senescencia temprana, debido a la cual los granos no llegan a llenarse completamente. Por ello se cruzó con la variedad Leda, obtenida en el Departamento del Arroz del IVIA, que se caracteriza por ser una planta de baja estatura, bastante productiva y de grano grande aunque poco perlado.

Como parentales masculinos de las poblaciones se utilizaron, en un caso, la variedad Jsendra, obtenida en el Departamento del Arroz del IVIA por selección genealógica del cruzamiento de M202 x Senia, y registrada en 2004. Se trata de una variedad de baja estatura y muy resistente al encamado. Tiene color verde muy oscuro, que se mantiene hasta la maduración, y porte cerrado; sus hojas bandera son erectas y sobresalen por encima de las panículas. Es altamente productiva y su grano es de tipo medio muy perlado, con perla grande central. En la otra población, el parental masculino fue la línea de mejora del IVIA denominada (Marjal x Senia)-16B, una F8 que procede del cruzamiento de Marjal x Senia. Marjal es una variedad obtenida por el Departamento del Arroz y registrada en 1998. Se trata de una planta de talla baja, con hojas erectas de color verde oscuro y cuyas hojas bandera sobresalen por encima de las panículas; tanto sus hojas como sus granos tienen una pilosidad escasa; además, su grano es cristalino y prácticamente desprovisto de aristas. La variedad Senia también fue obtenida en el Departamento del Arroz del IVIA por selección genealógica, y se registró en 1984. Combina plantas bastante productivas con una altura media, grosor de tallo medio, porte semiabierto y panículas que sobresalen por encima de la hoja bandera. Su grano es de tipo medio, muy perlado, con perla grande central. Desde su aparición ha sido muy cultivada, hasta ser desplazada recientemente por nuevas variedades más productivas, de menor altura y más resistentes al encamado (algunas de las cuales tienen esta variedad en su pedigree).

La nomenclatura que utilizaremos para referirnos a estas dos poblaciones será:

- Población J , que proviene del cruzamiento (Z9 x Leda)-2 x Jsendra.
- población MS, proveniente del cruzamiento (Z9 x Leda)-2 x (Marjal x Senia)-16B.

En la figura 10 muestra un esquema del origen del material utilizado en este trabajo.

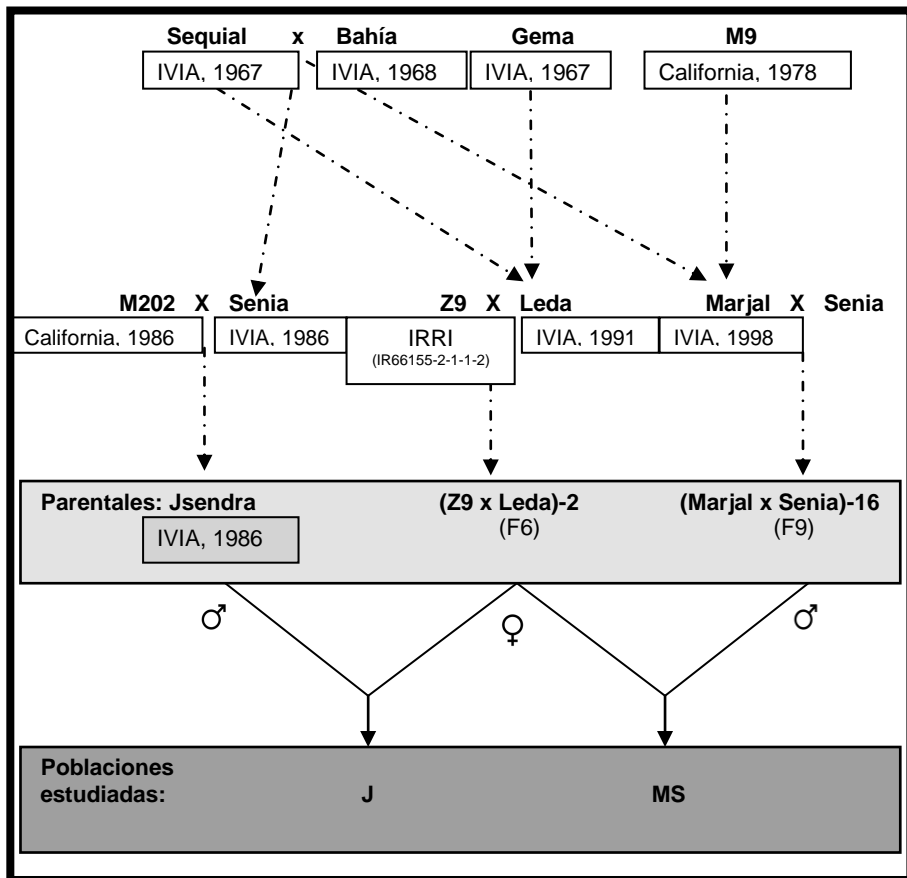


Figura 10 . Esquema del origen y generación del material vegetal utilizado en este trabajo. Los cuadros indican las institución de origen, y el año de registro de las variedades: "California" se refiere a California Cooperative Rice Research Foundation, Inc. (CCRRF), e "IVIA" al actual Departamento del arroz del IVIA, antiguamente Estación arrocería de Sueca.

En la siguiente figura se muestra el esquema general del diseño experimental en cada una de las poblaciones estudiadas.

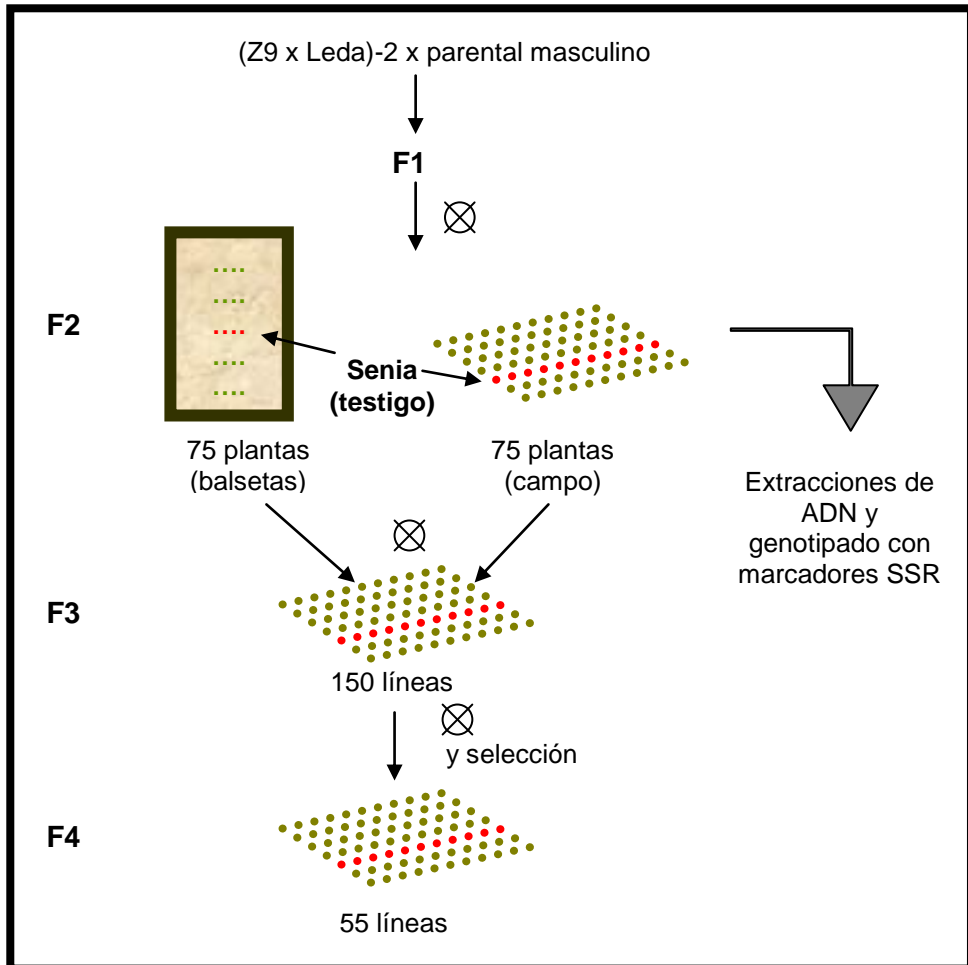


Figura 11. Esquema del diseño experimental en cada una de las poblaciones.

A partir de las F1 de cada cruzamiento se obtuvieron, por autofecundación, las correspondientes F2. En primavera de 2004 se evaluaron 150 plantas de cada población F2 en dos ambientes y densidades diferentes: 75 plantas se cultivaron en campo con un marco de plantación de 50cm x 15cm en dos parcelas situadas en el Palmar (dentro del Parque Natural de la Albufera); mientras que otras 75 plantas se cultivaron en balsetas de cemento en el Departamento del Arroz del IVIA, situado en la población de Sueca, con un marco de plantación de 15cm x 10.5cm. Como testigos se utilizaron plantas de la

variedad Senia en las cuatro combinaciones genotipo-ambiente, por ser la variedad que se ha venido usando como testigo en el Departamento del Arroz y para el registro de variedades, y porque forma parte del fondo genético de ambas poblaciones. En la figura 12 se observan las balsetas y las parcelas del campo en las que se cultivaron las plantas F2.

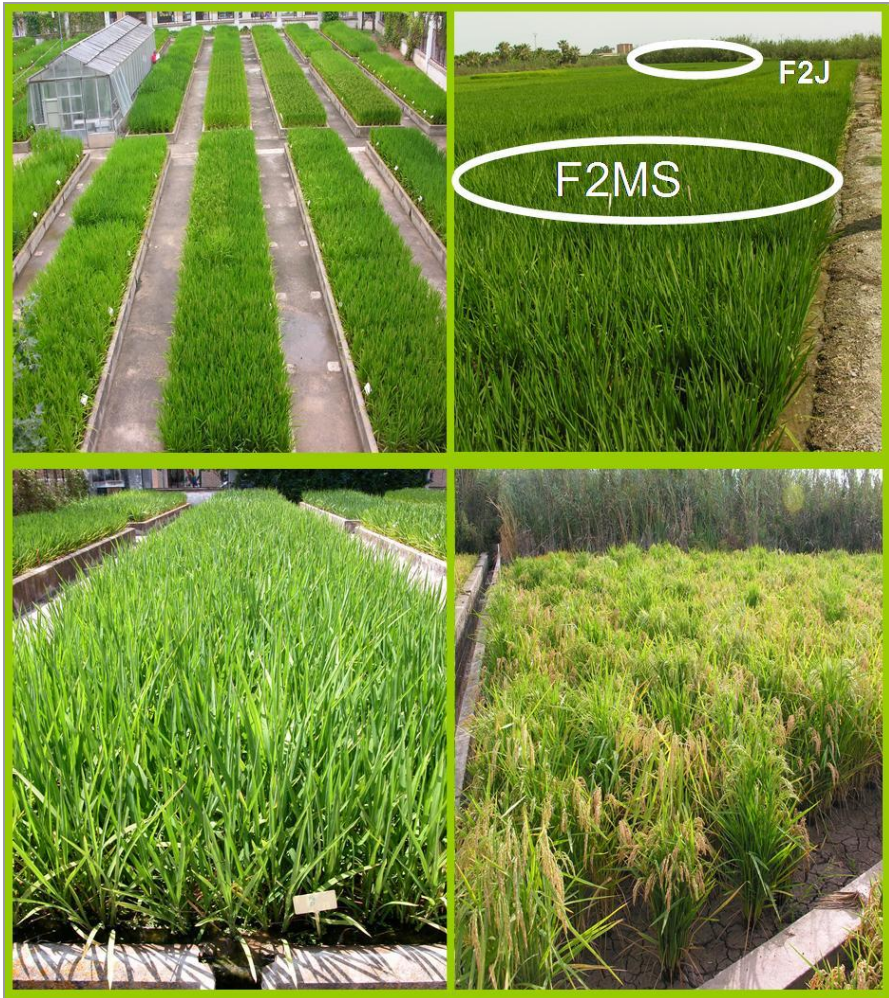


Figura 12 . Arriba: Vista general de las balsetas y parcelas de campo en las que se cultivaron las plantas F2. Abajo: Detalle de la familia F2MS en balsetas y de la familia F2J en campo.

A finales del mes de abril de 2005, 50 semillas procedentes de la autofecundación de cada planta F2 se sembraron para constituir la correspondiente línea F3, hasta un total de 300 líneas. 30 plántulas de cada una

de estas líneas se transplantaron a campo en una parcela situada en el Palmar. Se dispusieron en filas, con una separación de 15cm entre plantas y 50cm entre filas. Como testigo se intercaló, cada 25 filas, una fila de la variedad Senia. Además, en la misma parcela se cultivó una fila de cada uno de los parentales de los cruces ((Z9 x Leda), (Marjal x Senia), Jsendra) y progenitores de los parentales (Z9, Leda, Marjal, Senia, M202). Finalmente, se cosechó semilla de la autofecundación de seis individuos al azar de cada línea para constituir líneas F4.

En la primavera de 2006 se cultivaron las líneas F4 seleccionadas según los criterios descritos más adelante. Estas 110 líneas F4, 55 por cruzamiento, fueron cultivadas en la misma parcela en que lo fueron las F3 el año anterior, y en las mismas condiciones de abonado y marco de plantación.

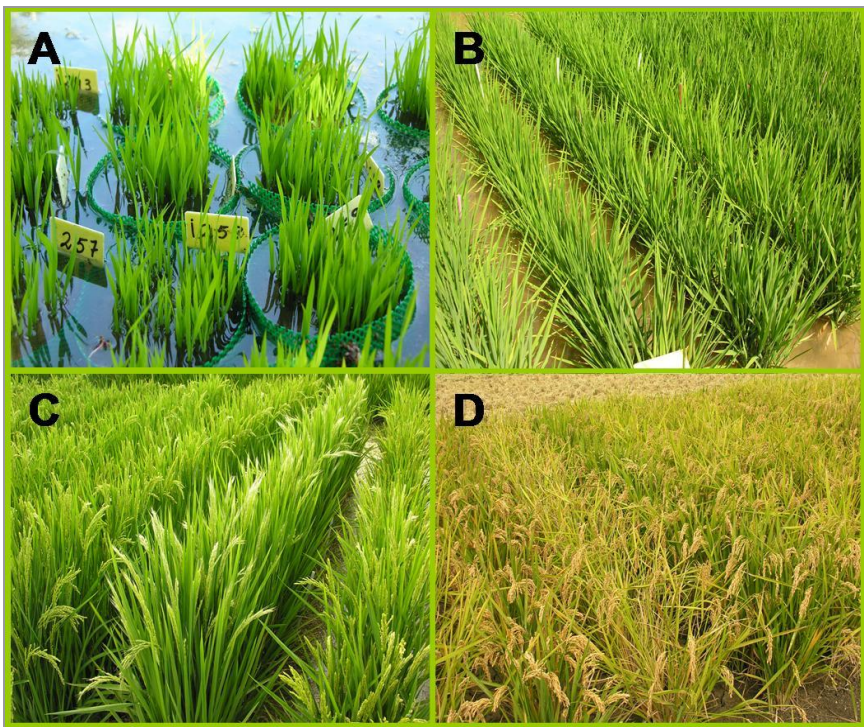


Figura 13. Fases del cultivo de las líneas F3 y F4. A. Semillero. B. Desarrollo vegetativo. C. Floración. D. Maduración.

3.2. Evaluación fenotípica

En cada planta F2 se midió tras el espigado la longitud de cuatro hojas bandera (**Lhoja**), y el resto de caracteres se midieron a partir de la maduración; la fecha de maduración (**Madur**) se determinó como el número de días desde la siembra hasta la madurez fisiológica del grano, es decir, hasta que el 95% de los granos estuvieron maduros. En F3 y F4 se observó bastante homogeneidad para este carácter dentro de línea por lo que se tomó un único valor por línea. A partir de este momento, en cada planta F2 y en 6 plantas de cada línea F3 y F4 se valoraron los siguientes parámetros relacionados con el encamado:

- Altura (**Alt**): altura de la planta desde el suelo hasta la punta de la panícula más alta.
- Longitud de panícula (**Lpan**): tras la cosecha se tomaron 5 medidas por planta, desde el primer nudo del raquis hasta la punta de la panícula.
- Longitud del tallo (**Ltallo**) = $Alt - Lpan$.
- Porte de la planta (**Porte**): el hábito de crecimiento de la planta se midió como el ángulo que forman con la vertical los tallos más externos siguiendo una escala del 1 al 6: 1 son las plantas más erectas, con una apertura inferior a 10°, 2 equivale a una apertura inferior a 20°, etc. Como excepción, para este carácter se anotó un sólo valor para el conjunto de cada línea F3 ó F4, pues se observó una alta homogeneidad dentro de las líneas.
- Grosor del tallo: tras la cosecha, en F2 se midió con un pie de rey el diámetro de 5 tallos por planta a la altura del segundo entrenudo contando desde la base (**DiamA**). Sin embargo, en F3 y F4 el valor medio del diámetro del tallo se calculó a partir de la longitud de la circunferencia de todos los tallos de la planta (**Diam**) a la altura del segundo entrenudo, tras contabilizar el total de tallos presentes.
- Número de panículas por planta (**Npan**): contadas en el momento de la cosecha.
- Peso total (**Pestot**): peso de las panículas cosechadas de cada planta.
- Peso medio de la panícula (**Pespan**) = $Pestot / Npan$.
- Peso de 100 granos (**P100**).

También en F2 se determinaron, en 25 granos descascarados por planta, los valores medios de los siguientes parámetros relativos a las dimensiones del grano (en milímetros) mediante un lector de imagen asociado al programa Inspector (de la casa Matrox):

- Longitud (**L**).
- Anchura (**A**).
- Relación longitud-anchura (**L/A**) = L/A.

En estos mismos granos, tras el proceso de blanqueado (en un molino pulidor para muestras pequeñas, de Kett), se valoró el perlado; para ello se contó el número de granos con perla grande, mediana y pequeña en cada muestra y, a partir de estos datos, se calculó:

- Porcentaje de granos perlados (**Perl**).
- Tamaño medio de la perla (**Tmp**): se calculó aplicando el siguiente índice $(3 \times N^{\circ} \text{ perlas grandes} + 2 \times N^{\circ} \text{ perlas medianas} + N^{\circ} \text{ perlas pequeñas}) / N^{\circ} \text{ total de granos perlados}$.

En F3 y F4 se evaluaron además los siguientes caracteres:

- Resistencia al doblado (**Dobl**): en maduración, se ató una cinta unida a un dinamómetro alrededor de los tallos, a la altura del segundo entrenudo, y se midió la fuerza necesaria para doblar la planta hasta formar un ángulo de 90° con la vertical (figura 14).
- Longitud del segundo entrenudo (**Entrn**): una vez cosechadas las plantas, se midió la longitud del segundo entrenudo en dos tallos/planta.



Figura 14. Medida de la resistencia al doblado.

Por otra parte, en F2 y F3 se tomó nota de la presencia/ausencia de arista en granos y de pilosidad en granos y hojas, ya que se observó segregación en estas características.

3.3. Análisis cuantitativo

Los análisis estadísticos para el análisis cuantitativo se realizaron con la ayuda de los paquetes estadísticos Statgraphics Plus 5.0[®] (Statistical Graphics corp. 1994-2000) y SAS 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, NC USA).

3.3.1. Distribuciones y medias

Para cada carácter estudiado se elaboraron histogramas en las poblaciones F2 en cada ambiente, y en cada población F3, y se comprobó la aproximación a la normalidad de estas distribuciones mediante “representación probabilística normal”. Asimismo, se calcularon medias y desviaciones típicas para cada uno de ellos.

3.3.2. Heredabilidad

Como se definió en la introducción, la heredabilidad en sentido amplio (H^2) es el cociente entre la varianza genética (V_G) y la varianza fenotípica (V_P), mientras que la heredabilidad en sentido estricto (h^2) es el cociente entre la varianza aditiva (V_A) y la varianza fenotípica:

$$H^2 = \frac{V_G}{V_P} \qquad h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

En la generación F2 sólo puede calcularse la heredabilidad en sentido amplio, ya que con los datos de plantas individuales se puede estimar el valor de la varianza genética global, pero no el de la aditiva. En cambio, en F3, al tener información sobre la varianza entre líneas y dentro de éstas, se estimó qué parte de la varianza genética es debida a los efectos aditivos y a los dominantes, pudiéndose estimar también la heredabilidad en sentido estricto. Para estos cálculos es necesario estimar cada uno de los componentes de la varianza, mediante el análisis de varianza (ANOVA) que se describe a continuación.

Para los análisis en F2 de los caracteres con una observación por individuo (altura, longitud del tallo, porte, número de panículas, etc.), V_P es el valor de la varianza de cada población en cada ambiente, V_E se estimó como la varianza de las plantas de la variedad Senia utilizadas como testigo y V_G se estimó a partir de los valores anteriores como $V_G = V_P - V_E$. En el caso de caracteres con más de una observación por planta, tales como la longitud de panícula y el grosor del tallo, el análisis de varianza se realiza según el siguiente modelo:

| Fuente de variación | g.l. | Cuadrados medios esperados |
|----------------------------|--------------|------------------------------------|
| Entre plantas | pl - 1 | $\sigma^2 + m \cdot \sigma_{pl}^2$ |
| Dentro de planta (error) | pl · (m - 1) | σ^2 |
| Total | pl · m - 1 | $\sigma^2 + \sigma_{pl}^2$ |

Donde, pl = número de plantas/población, m = número de medidas/planta, σ^2 = componente de la varianza dentro de planta (varianza ambiental debido al desarrollo: E_2), σ_{pl}^2 = varianza de las medias de las plantas.

La varianza fenotípica corresponde a los cuadrados medios esperados totales, $V_P = \sigma^2 + \sigma_{pl}^2$. Realizando el mismo análisis de varianza en el testigo homocigo, $\sigma_{plSenia}^2 = E_1$ (varianza ambiental entre individuos) y se estima el valor de la varianza genética como $V_G = \sigma_{pl}^2 - E_1$.

En el caso de las F3, se han seguido las definiciones de Chandraratna (1964) para el análisis de varianza y las estimas genéticas de la generación Fn (donde $n \geq 3$), de modo que:

| Fuente de variación | g.l. | Cuadrados medios esperados |
|----------------------------|--------------|-----------------------------------|
| Entre líneas | l - 1 | $\sigma^2 + pl \cdot \sigma_l^2$ |
| Dentro de líneas | l · (pl - 1) | σ^2 |
| Total | l · pl - 1 | $\sigma^2 + \sigma_l^2$ |

Donde, l = número de líneas, pl = número de plantas/línea, σ_l^2 = varianza de las medias de las líneas.

En este caso la varianza fenotípica de la población es $V_P = \sigma^2 + \sigma_l^2$. Y del análisis de varianza en el testigo homocigo se obtiene σ_{Senia}^2 = varianza ambiental dentro de líneas = varianza del ambiente específico (E_2), y σ_{lSenia}^2 = varianza ambiental entre líneas = varianza del ambiente común (E_1), de manera que la varianza ambiental total (V_E) es la suma de E_1 y E_2 .

En la generación Fn los valores esperados de las varianzas son:

$\sigma^2 = 2^{1-n} D + 2^{-n} H + E_2$ y $\sigma^2_1 = (1 - 2^{2-n})D + 2^{-n}(1-2^{2-n})H + E_1$, siendo D la parte de variación debida a los efectos aditivos, y H la parte de la variación debida a los efectos no aditivos. Esta ecuación queda de la siguiente manera en la generación F3:

$\sigma^2 = 1/4 D + 1/8 H + E_2$ y $\sigma^2_1 = 1/2 D + 1/16 H + E_1$. De aquí se pueden obtener los valores de H y D, se calcula la varianza aditiva (V_A) = 1/2 D y la varianza dominante (V_D) = 1/4 H, y a partir de éstas se obtiene los valores de $V_G = V_A + V_D$ y $V_P = V_A + V_D + V_E$, con los que se calcula H^2 y h^2 .

Para caracteres con varias observaciones por planta, el análisis de varianza sigue el modelo siguiente:

| Fuente de variación | g.l. | Cuadrados medios esperados |
|---------------------|------------------|--|
| Entre líneas | l - 1 | $\sigma^2 + m \cdot \sigma^2_{pl} + pl \cdot \sigma^2_1$ |
| Entre plantas | l · (pl - 1) | $\sigma^2 + m \cdot \sigma^2_{pl}$ |
| Dentro de pl(error) | l · pl · (m - 1) | σ^2 |
| Total | l · pl · m - 1 | $\sigma^2 + \sigma^2_{pl} + \sigma^2_1$ |

Donde, m = número de medidas/planta, $\sigma^2 = E_3$ (componente de la varianza ambiental debido al desarrollo).

La varianza fenotípica de la población es $V_P = \sigma^2 + \sigma^2_{pl} + \sigma^2_1$. Del análisis de varianza en el testigo homocigo se obtienen $\sigma^2_{1\ Senia} = E_1$; $\sigma^2_{pl\ Senia} = E_2$. En este caso, la varianza ambiental total es $V_E = E_1 + E_2 + E_3$. Con las fórmulas anteriores se hallan los valores de H^2 y h^2 .

3.3.3. Comparación entre poblaciones y ambientes

En F2, para la comparación entre poblaciones, se realizó un análisis de varianza de cada carácter, cuyas fuentes de variación son: población y plantas dentro de población. Para la comparación de los ambientes estudiados en cada población se realizaron sendos ANOVAs cuyas fuentes de variación son: localidad (campo y balseta) y planta dentro de localidad. En F3, como los ensayos se realizaron en la misma parcela, se comparó el comportamiento de las dos poblaciones mediante un ANOVA cuyas fuentes de variación son: población, líneas dentro de población y planta dentro de línea. En todos los casos, el ANOVA

de los caracteres con más de un dato por planta incluyó el factor tallo dentro de planta.

Asimismo, para conocer la homogeneidad de los ambientes en los que han tenido lugar los ensayos, se realizaron estos mismos ANOVAs en la plantas de la variedad Senia situadas como testigo homocigo en todos los ambientes evaluados, y se calcularon los intervalos MDS (mínima diferencia significativa, o LSD en inglés).

De los resultados de los ANOVAs obtenemos también los valores de CV (coeficiente de variación), que informan sobre la variación o dispersión existente en el conjunto de los datos analizados en cada carácter, respecto al valor de la media global; así como R^2 (coeficiente de determinación), que indica el porcentaje de la variación de cada carácter que viene explicado por las fuentes de variación incluidas en el modelo descrito en el ANOVA.

3.3.4. Correlaciones entre caracteres

La correlación entre caracteres se ha calculado con el coeficiente de correlación lineal de Pearson (Gómez y Gómez, 1976):

$$r = \frac{\text{Cov}}{\sigma_x \cdot \sigma_y}$$

Donde Cov es la covarianza de dos caracteres y σ_x y σ_y son las desviaciones típicas de los dos caracteres.

3.3.5. Respuesta a la selección

Para calcular la efectividad de la selección en F3 se aplicó, sólo en los caracteres relacionados con el encamado, una presión de selección familiar $p=5\%$ e intrafamiliar de 1/6: se eligieron 7-8 líneas F3 de cada cruzamiento con los valores más extremos en cada uno de los caracteres de interés y, dentro de cada línea, se seleccionó la planta con los valores más extremos. Su descendencia fue evaluada como línea F4. La resistencia al doblado y el diámetro del tallo se seleccionaron positivamente; la altura se seleccionó negativamente; el número de panículas y la longitud del segundo entrenudo basal se seleccionaron bidireccionalmente (positiva y negativamente).

Se calculó el diferencial de selección (S) como la diferencia entre la media de las líneas F3 seleccionadas (M_{selec}) y la media de todas las líneas F3 (M_{F3}); y la respuesta a la selección (R) como la diferencia entre la media de las F4 de la descendencia (M_{F4}) y M_{F3} , comprobándose su significación mediante una prueba t-Student.

3.4. Análisis molecular

3.4.1. Extracción de ADN

Se cosecharon hojas de las 150 plantas F2 de cada una de las familias, y se conservaron a -20°C . Posteriormente se realizaron las extracciones de ADN genómico siguiendo el protocolo de extracción propuesto por Dellaporta *y col.* (1983) con pequeñas modificaciones (Ruiz *y col.*, 2000):

- 100 gramos de cada muestra se machacan en mortero de cerámica, manteniéndolos en hielo o con N_2 líquido;
- se añaden 700 μl de tampón de extracción (Tris 100mM, EDTA 50mM, NaCl 500mM, β -mercaptoetanol 10mM, pH 8.0);
- la muestra obtenida se recoge en un tubo eppendorff, y se añaden 40 μl de SDS al 20%;
- se mezcla vigorosamente y se incuba a 65°C durante 10 minutos;
- se añaden 200 μl de KAc 5M, se mezcla y se incuba en hielo durante 20 minutos;
- se centrifuga en frío a la máxima velocidad (en este caso 13.400 rpm) durante 10 minutos;
- el sobrenadante se filtra con miracloth para pasarlo a otro tubo eppendorff, se añade isopropanol hasta rellenar los 1500 μl del tubo, se mezcla por inversión y se incuba a temperatura ambiente durante 10 minutos;
- se centrifuga en frío durante 5 minutos a la máxima velocidad;
- el sobrenadante es decantado, se lava el pellet con etanol frío (70%, -20°C) y se resuspende en 100 μl de TE.
- se centrifuga en frío a máxima velocidad durante 10 minutos y se transfiere el sobrenadante a otro tubo;

- se añaden 11µl de NaAc 3M y 72µl de isopropanol, se mezcla por inversión y se centrifuga en frío durante 3 minutos;
- se decanta el sobrenadante, se lava el pellet con etanol frío y se deja secar;
- se resuspende en 30µl de TE.

La concentración y pureza de los extractos de ADN se midió con un espectrofotómetro Spectronic Genesys 10.Bio (de Thermo), determinando la Absorbancia a 260 y 280nm; el valor de R, que nos da una idea de la pureza de la muestra, se obtiene con el cociente de la A260 y A280. El valor de la concentración en µg/µl se obtiene multiplicando el valor de A260 por 4.6 y teniendo en cuenta el factor de dilución.

3.4.2. Identificación de polimorfismos y genotipado de la población F2MS

Para la detección de loci polimórficos se han utilizado marcadores de tipo microsatélite o SSR. Se detectan mediante PCR, que utiliza como cebadores dos secuencias específicas de 17 a 20 nucleótidos que flanquean un determinado locus SSR. La amplificación se realizó en un termociclador GeneAmp PCR system 9700, de Applied Biosystems. Para la reacción se utilizan 50ng de ADN, a los que se añaden 0.5u de una polimerasa termoestable (NETZYME[®] ADN Polimerasa, de N.E.E.D. S.L.), 0.2mM de cada cebador (forward y reverse), 0.1mM de dNTPs, 2mM de MgCl₂ y el tampón de reacción recomendado por el fabricante, en un volumen final de 20 µl. Las condiciones generales de la PCR son: 1 minuto a 94°C, para la desnaturalización inicial, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante un minuto, hibridación durante un minuto a la temperatura de apareamiento (annealing) adecuada a cada marcador, extensión a 72°C durante un minuto y, finalmente, 5 minutos a 72°C para la extensión final. Las temperaturas de annealing han oscilado entre 50° y 61°C, dependiendo del tamaño y la composición en nucleótidos de los cebadores.

Los productos de PCR se mezclaron con 2µl de 10x tampón de carga (50% glicerol, 1x TBE, 0.5% azul de Bromofenol Blue, 0.5% de Xilen-cyanol), y se resolvieron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% (Solución stock de acrilamida: N,N'-metilenbisacrilamida Solugel[®] 29:1, al 40%, de Pronadisa), en tampón 1x TBE (90mM Tris borato, 2mM EDTA, pH 8.3), a una potencia constante de 60W durante 3 a 5 horas. Se han utilizado sistemas de electroforesis vertical Sequi-Gen GT (BioRad) y S3S (Owl), con fuentes de

electroforesis Power Pac 3000 (BioRad) y E832 (Consort). En los marcadores que lo han permitido, se ha realizado una carga secuencial (multiplexing) de dos o más tandas de muestras por gel, con una separación entre tandas de unas dos horas. Los fragmentos amplificados se revelaron por tinción de plata mediante la modificación del método de Beidler (Beidler *y col.*, 1982), ajustado para estos geles de gran tamaño. Para ello, el gel permanece pegado al cristal ya que en su preparación se le aplica un agente silanizante (0.1% de Bind-Silane[®] de Pharmacia, en etanol al 96% y 0.1% de ácido acético), y para la tinción se somete sucesivamente a los siguientes tratamientos: 20 minutos en etanol al 10%, 5 minutos en ácido nítrico al 1%, dos lavados en agua, 30 minutos de AgNO₃ al 0.2%, un lavado con agua, un lavado breve y un revelado con Na₂CO₃ al 3% adicionado con formaldehído al 0.02%, 30 segundos en ácido acético al 5% y tres lavados finales con agua. Las condiciones de electroforesis y tinción son, básicamente, las descritas por Ruiz *y col.* (2000).

El estudio se inició con la búsqueda de marcadores polimórficos entre los parentales de las dos familias. Los marcadores a cribar se seleccionaron a partir de numerosos mapas de ligamiento de SSRs en arroz, muchos de los cuales se encuentran en la base de datos de la Universidad de Cornell, que incluye cerca de 20.000 marcadores (www.gramene.org). Inicialmente, se eligieron marcadores que distan unos 20 cM entre ellos, a lo largo de los 12 cromosomas, aunque se fueron incorporando otros en las zonas donde no se detectaron inicialmente polimorfismos entre los parentales. En el Anexo 1 se muestra la lista de los SSRs ensayados, el cromosoma en que se localizan, cebadores y temperatura de apareamiento. La nomenclatura de los marcadores ha sido la general (RM -Rice Microstellite- seguido de un número), y en los casos en los que un marcador amplifica más de un locus, se han añadido letras mayúsculas (A, B, C,...) para distinguirlos. En la mencionada página web pueden encontrarse las secuencias de los cebadores correspondientes a cada marcador, así como su posición en diversos mapas publicados.

Una vez identificados los marcadores polimórficos entre los parentales se genotiparon los 150 individuos de la población F2MS.

3.4.3. Análisis de ligamiento de los marcadores

La existencia de desviaciones significativas respecto de las frecuencias esperadas en los genotipos en cada marcador se analizó mediante una prueba

Chi-cuadrado. La construcción del mapa de ligamiento se ha realizado con el programa JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006), utilizando la función de mapa de Haldane para convertir la frecuencia de recombinación en centiMorgans (cM). Inicialmente se fijaron los grupos de ligamiento con LOD mayores de 3 y, en una segunda fase, se aceptaron valores de LOD 2 para asignar marcadores que en un principio no aparecieron ligados. Los grupos de ligamiento se asignaron a los cromosomas del arroz mediante la comparación con mapas genéticos anteriores y con el mapa físico en algunos casos.

3.4.4. Detección de QTLs

El análisis de QTLs se basa en la detección de asociación entre el fenotipo de los individuos y su genotipo en cuanto a marcadores. Como datos fenotípicos, se han utilizado los valores individuales de las plantas F2 y la media de los valores de la descendencia F3. Para manejar la gran cantidad de datos y estimas que requieren estos análisis, se han desarrollado diversos paquetes estadísticos específicos. En nuestro caso se ha trabajado con el programa QTLCartographer (Wang y *col.*, 2005) con el que se ha realizado el análisis marcador a marcador de aquellos marcadores que no se encuentran en ningún grupo de ligamiento, y el mapeo por intervalos compuesto (CIM) en los grupos de ligamiento. Para el CIM, se ha aplicado la selección automática de cofactores, y el método de regresión directo ("forward", $P(\alpha) \leq 0.01$). Se ha utilizado la hipótesis 3, que asume la existencia tanto de efectos aditivos como dominantes. Se estimó la posición de los QTLs detectados, su efecto aditivo y dominante, así como el porcentaje de la variación fenotípica (R^2) explicada por cada uno. La estima de la aditividad se expresa como el efecto del alelo materno respecto al del alelo paterno. Los umbrales de confianza para el CIM se determinaron mediante 300 permutaciones para cada carácter, eligiéndose los valores con una probabilidad de error de tipo I (α) $\leq 5\%$.

Los mapas de ligamiento y los QTLs detectados se han representado gráficamente mediante el programa MapChart (Voorrips, 2002).



4. Resultados

4. Resultados

4.1. Construcción del mapa de ligamiento de la población F2MS

Inicialmente se cribaron 156 marcadores SSR con el objetivo de detectar polimorfismos entre los parentales de las dos familias; para ello se compararon los parentales de la población F2MS ((Z9 x Leda) y (Marjal x Senia)) y los parentales de la población F2J ((Z9 x Leda) y Jsendra). De los resultados iniciales se obtuvo un porcentaje de polimorfismo del 49% para la población F2MS y 47% para la población F2J. Pero el genotipado completo de la población segregante sólo se llevó a cabo en el caso de F2MS.

Todos los marcadores que resultaron polimórficos entre los parentales fueron cribados en los 141 individuos de la población F2MS. En la segregación de algunos de ellos se detectaron alelos que no pertenecían a ninguno de los dos parentales. También hubo marcadores polimórficos entre los parentales que, en cambio, no mostraron segregación en la población F2MS. La primera hipótesis fue pensar que alguno de los parentales no era totalmente homocigoto y que en algunos puntos del genoma había fragmentos en heterocigosis; esto es posible, pues las líneas que se utilizaron como parentales eran F6 en el caso del parental femenino, y F9 en el del masculino, generaciones que aún no han alcanzado un alto grado de homocigosis (serían esperables proporciones de alrededor de un 0.031 y un 0.004 de heterocigosis, respectivamente). Además, como no se había conservado material vegetal de las líneas originales utilizadas como parentales, las extracciones de ADN se hicieron con hojas de dos generaciones posteriores a ellos, es decir F8 de (Z9 x Leda) y F11 de (Marjal x Senia). Dado que se encontraron algunos alelos distintos a los de la extracción con la que estábamos trabajando, se pensó que pudieran proceder de las variedades que dieron lugar a los parentales: Z9, Leda, Marjal y Senia, y se ensayaron con los marcadores correspondientes. En la mayoría de casos, los alelos proceden de alguna de estas variedades, pero quedaron algunos alelos que continuaban siendo de origen desconocido; en tales casos, el análisis de ligamiento posterior determinó si procedían del parental femenino o del masculino.

En lo sucesivo utilizaremos el siguiente código para designar los alelos encontrados en el genotipado de la población F2MS (tabla 5):

| código | alelo al que designa |
|---------------|---|
| z | Z9 |
| l | Leda |
| f | Z9 ó Leda |
| m | Marjal |
| s | Senia |
| t | Marjal ó Senia |
| a | alelo desconocido procedente del parental femenino |
| b | alelo desconocido procedente del parental masculino |
| e | alelo desconocido procedente del parental masculino 2 |

Tabla 5. Códigos utilizados en la designación de los de los alelos del genotipado.

Entre los 156 marcadores cribados se encontraron 39 alelos de procedencia desconocida. Pero además, en algunos marcadores se encontraron segregaciones no esperadas: algunos con escasez de heterocigotos y de uno de los homocigotos (1:2:9 ó 2:4:6) y, otros, con dos o tres tipos de heterocigotos, y tres o cuatro tipos de homocigotos, respectivamente. De forma que la hipótesis inicial no explicaba los resultados obtenidos. Para la interpretación de los resultados, se revisó el genotipado de los marcadores con segregaciones no esperadas, haciendo especial hincapié en aquellos en que se halló más de un heterocigoto.

Tenemos un ejemplo de ello en la figura 15, donde se observa la segregación del marcador RM422 (situado en el cromosoma 3). Se encontraron tres tipos de heterocigotos, los tres con un alelo común (z), y 4 tipos de homocigotos. Además, el homocigoto del alelo z era el más frecuente.

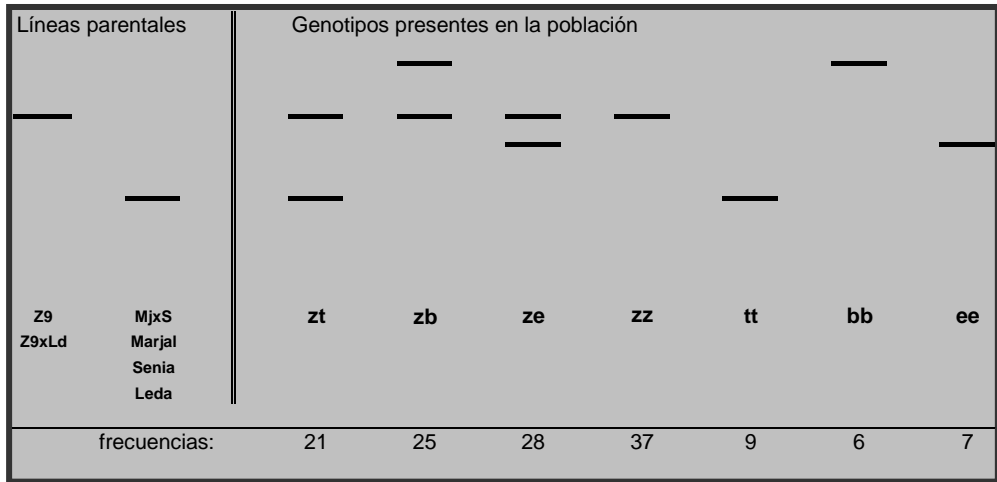


Figura 15. Esquema de la segregación del marcador RM422 en la población F2MS. Se indican las frecuencias de cada genotipo. Denominación de los alelos según los códigos de la tabla 5.

Una explicación para esta segregación era que F2MS podría ser en realidad una mezcla de la descendencia de tres F1 diferentes, cada una de ellas con el genotipo zt, zb y ze en este locus y que, por tanto, las líneas utilizadas como parentales en el cruzamiento no eran homocigotas en este punto del genoma. Se procedió entonces a dividir los 150 individuos de F2MS en subfamilias, y para ello fueron claves los marcadores con alelos no esperados (algunos de los cuales se muestran en la figura 16):

- Un marcador con cuatro tipos de homocigotos y tres tipos de heterocigotos: RM422, situado en el cromosoma 3.
- Marcadores con tres tipos de homocigotos y dos heterocigotos: RM530 situado en el cromosoma 2; RM569, RM231, RM347 y RM514 en el 3; RM335 en el 4; RM548, RM574 y RM430 en el 5; RM162 y RM340 en el 6; RM333 en el 10; RM206, RM144, RM224 en el 11 y RM101 en el 12.

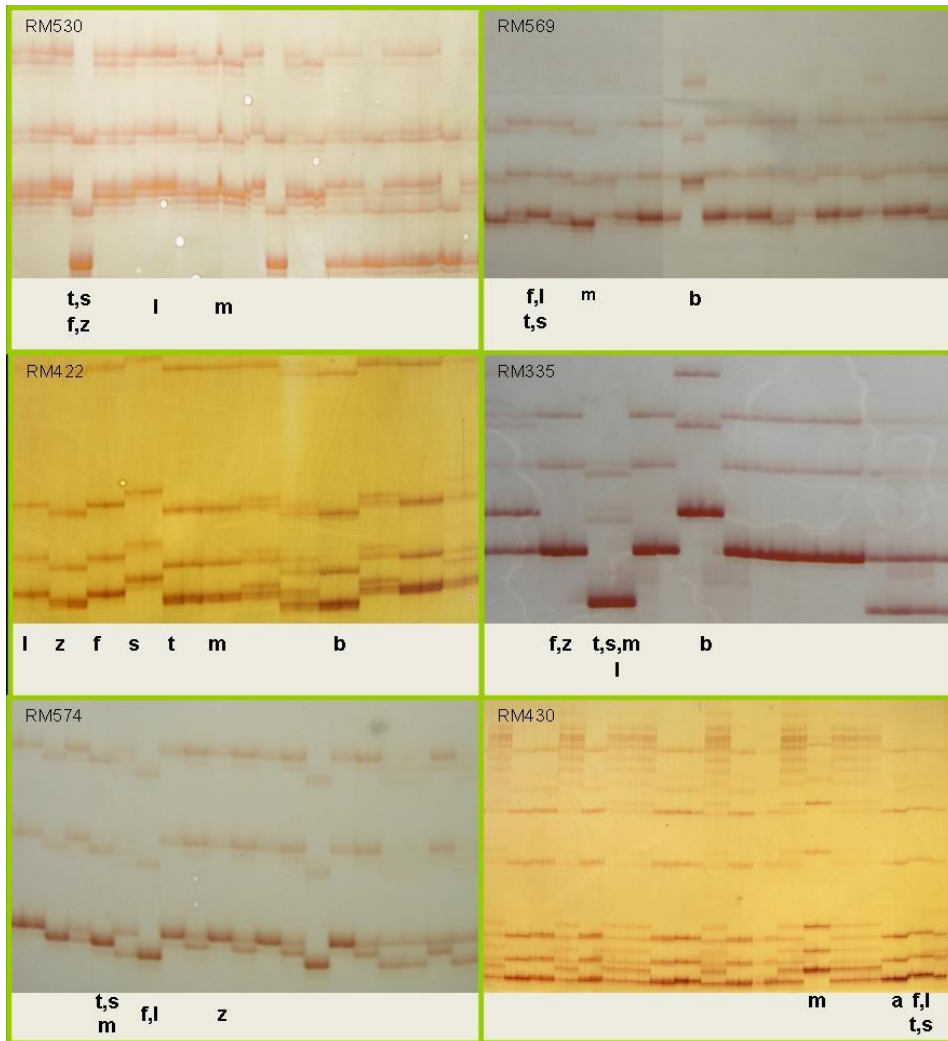


Figura 16. Marcadores SSR cribados en la población F2MS que presentan alelos y segregaciones no esperadas. Códigos de los alelos según la tabla 5.

La forma de proceder fue la siguiente: los individuos que en el marcador RM422 tuvieran los genotipos ze y ee se agruparon como F2MS-A, los individuos con los genotipos zb y bb como F2MS-B, y los individuos con los genotipos zt y tt como F2MS-C (los individuos homocigotos zz, que podrían pertenecer a cualquiera de las tres subfamilias, se asignaron posteriormente gracias al resto de marcadores). Los marcadores del segundo grupo fueron corroborando esta hipótesis, apareciendo alelos concretos en sólo una de las subfamilias. Además, esta distribución justificaba las frecuencias no esperadas en la segregación de

otros marcadores, ya que en alguna de las subfamilias había segregación y en otras no. Tras esta distribución, la subfamilia A cuenta con 62 individuos, la B con 37 y la C con 42. Quedaron 9 individuos que no pertenecían a ninguna clase, que se eliminaron del análisis molecular. Finalmente, se cribaron nuevos marcadores para intentar saturar las zonas en las que no se encontraron polimorfismos.

En la tabla 6 se presentan los genotipos y la segregación de los marcadores que resultaron polimórficos en, al menos, una de las subfamilias, así como los resultados de la prueba Chi-cuadrado ($p(\alpha) \leq 0.05$) para comprobar el ajuste de las segregaciones a la proporción esperada (1:2:1, si se trata de marcadores codominantes y 1:3 ó 3:1, si se trata de marcadores dominantes). Sólo en las combinaciones marcador-subfamilia que aparecen sombreadas se observó segregación en F2MS; en el resto, aunque podemos deducir los alelos presentes, no existe un polimorfismo observable. Por otra parte, además de los SSR se incluyeron dos marcadores morfológicos: planta pilosas o glabras (*pel*) y presencia o no de arista (*aris*).

La mayoría de los marcadores segregaron de acuerdo con la proporción esperada. Los marcadores que muestran distorsión en la segregación están distribuidos por todo el genoma y no se repiten, en general, entre las subfamilias, excepto el marcador RM422 en el cromosoma 3 de las subfamilias A y B, y el RM473C en el cromosoma 7, en A y C.

Tabla 6. Genotipos, segregación y resultados de la prueba Chi-cuadrado de los marcadores analizados en la población F2MS dividida en subfamilias. Las celdas sombreadas indican las combinaciones marcador-subfamilia con un polimorfismo visible. En el resto no se pudo detectar segregación. En la prueba Chi-cuadrado, los datos se alejan de las segregación mendeliana esperada * con un $P(\alpha) \leq 0.05$, ** con un $P(\alpha) \leq 0.01$ y *** o más con $P(\alpha) \leq 0.001$. Denominación de los alelos según los códigos de la tabla 5.

| | | F2MS-A | | | | F2MS-B | | | | F2MS-C | | | |
|-------------|--------|--------------|----------------|-------|----------|--------------|----------------|----------|--------------|--------------|----------------|--|--|
| | | aa / ab / bb | X ² | | | aa / ab / bb | X ² | | | aa / ab / bb | X ² | | |
| Cromosoma 1 | RM1 | ll/bb | 35 / 15 / 12 | ***** | ll/tt | | | ll/tt | | | | | |
| | RM259 | zz/zl/tt | 11 / 9 / 42 | ***** | zz/zl/tt | 11 / 11 / 12 | - | zz/zl/tt | 10 / 17 / 12 | - | | | |
| | RM294A | zz/zl/tt | 15 / 30 / 14 | - | zz/zl/tt | 9 / 19 / 8 | - | zz/zl/tt | 7 / 18 / 16 | - | | | |
| | RM488 | zz/zl/tt | 15 / 28 / 17 | - | zz/zl/tt | 10 / 21 / 5 | - | zz/zl/tt | 7 / 16 / 17 | ** | | | |
| | RM246 | zz/zm/mm | 20 / 27 / 15 | - | zz/zm/mm | 12 / 17 / 8 | - | zz/zm/mm | 9 / 18 / 15 | - | | | |
| | RM473A | zz/zl/tt | 20 / 25 / 17 | - | zz/zl/tt | 12 / 16 / 9 | - | zz/zl/tt | 10 / 19 / 13 | - | | | |
| | RM486 | ff/fm/mm | 14 / 26 / 22 | - | ff/fm/mm | 5 / 25 / 7 | * | ff/fm/mm | 13 / 20 / 9 | - | | | |
| | RM104 | zz/zl/tt | 10 / 35 / 15 | - | zz/zl/tt | 5 / 25 / 7 | * | zz/zl/tt | 11 / 16 / 14 | - | | | |
| | RM165 | zz/zl/tt | 11 / 34 / 14 | - | zz/zl/tt | 5 / 22 / 5 | - | zz/zl/tt | 12 / 15 / 13 | - | | | |
| Cromosoma 2 | RM109 | ll/tt | | | ll/tt | | | zz/zl/tt | 6 / 25 / 11 | - | | | |
| | RM279 | ll/ss | | | ll/ss | | | ll/m/mm | 8 / 22 / 9 | - | | | |
| | RM423 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 10 / 17 / 10 | - | ff/ft/tt | | | | | |
| | RM174 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 8 / 19 / 4 | - | ff/ft/tt | | | | | |
| | RM438 | zz/zl/tt | | | zz/zl/bb | 10 / 17 / 10 | - | zz/zl/tt | | | | | |
| | RM475 | ff/fm/mm | 15 / 27 / 20 | - | ff/fm/mm | 15 / 12 / 10 | * | ff/fm/mm | 33 / 6 / 3 | ***** | | | |
| | RM124 | ff/fs/ss | 11 / 29 / 18 | - | ff/fm/mm | | | ff/fs/ss | 12 / 22 / 8 | - | | | |
| | RM263 | ll/tt | 18 / 30 / 13 | - | ll/tt | 7 / 20 / 9 | - | ll/tt | 11 / 20 / 8 | - | | | |
| | RM530 | ll/m/mm | 20 / 31 / 10 | - | ll/m/mm | 10 / 18 / 9 | - | ll/ss | 14 / 18 / 9 | - | | | |
| | RM482 | aa/am/mm | | | aa/as/ss | 15 / 14 / 8 | * | aa/as/ss | 14 / 17 / 9 | - | | | |

| | | F2MS-A | | | F2MS-B | | | F2MS-C | | |
|-------------|---------|--------------|----------------|---------|--------------|----------------|---------|--------------|----------------|------|
| | | aa / ab / bb | X ² | | aa / ab / bb | X ² | | aa / ab / bb | X ² | |
| Cromosoma 3 | RM569 | ll/s/ss | | | ll/b/bb | 10 / 17 / 9 | - | ll/m/mm | 9 / 20 / 13 | - |
| | RM231 | ll/s/ss | | | ll/b/bb | 11 / 16 / 10 | - | ll/m/mm | 9 / 20 / 10 | - |
| | RM232 | zz/z/tt | 17 / 35 / 10 | - | zz/z/tt | 13 / 14 / 10 | - | zz/z/tt | 17 / 23 / 2 | **** |
| | RM473B | ff/fm/mm | | | ff/fs/ss | 14 / 22 / 1 | *** | ff/fs/ss | 12 / 28 / 2 | *** |
| | RM564 | aa/a/tt | 16 / 28 / 17 | - | aa/a/tt | 13 / 18 / 6 | - | aa/a/tt | 11 / 18 / 13 | - |
| | RM347 | zz/zm/mm | 16 / 31 / 15 | - | zz/zm/mm | 13 / 14 / 10 | - | z-/ss | 0 / 31 / 11 | - |
| | RM168 | zz/zm/mm | 16 / 30 / 16 | - | zz/zm/mm | 11 / 15 / 10 | - | zz/zm/mm | 9 / 20 / 13 | - |
| | RM422 | zz/ze/ee | 20 / 28 / 7 | ** | zz/z/bb | 5 / 25 / 7 | * | zz/z/tt | 12 / 21 / 9 | - |
| RM514 | ll/e/ee | 28 / 25 / 9 | ***** | ll/b/bb | 7 / 20 / 10 | - | ll/t/tt | | | |
| RM148 | zz/z/bb | | | zz/z/bb | | | zz/z/tt | 13 / 20 / 9 | - | |
| Cr. 4 | RM335 | zz/z/bb | 17 / 27 / 18 | - | zz/z/tt | 8 / 15 / 14 | - | zz/z/tt | 10 / 24 / 8 | - |
| | RM146 | ff/fb/bb | 19 / 24 / 17 | - | ff/fb/bb | 7 / 17 / 12 | - | ff/fb/bb | 10 / 20 / 11 | - |
| Crom. 5 | pel | | | | f-/mm | 0 / 36 / 9 | - | | | |
| | RM548 | zz/z/bb | 19 / 26 / 16 | - | zz/z/tt | 13 / 11 / 13 | ** | zz/z/tt | 8 / 23 / 11 | - |
| | RM574 | zz/z/bb | 17 / 29 / 15 | - | zz/z/tt | 12 / 13 / 11 | - | zz/z/tt | 8 / 23 / 11 | - |
| | RM430 | aa/am/mm | 20 / 31 / 11 | - | aa/as/ss | 11 / 18 / 8 | - | aa/as/ss | 9 / 19 / 14 | - |
| | RM87 | ll/s/ss | | | ll/m/mm | 9 / 16 / 12 | - | ll/s/ss | | |
| Cromosoma 6 | RM190 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 9 / 21 / 6 | - | ff/ft/tt | | |
| | RM510 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 10 / 20 / 7 | - | ff/fb/bb | 10 / 18 / 13 | - |
| | RM541 | ll/s/ss | | | ll/m/mm | 11 / 18 / 7 | - | ll/m/mm | 9 / 23 / 9 | - |
| | RM162 | zz/z/tt | 15 / 32 / 13 | - | zz/z/bb | 10 / 23 / 4 | - | zz/z/tt | 9 / 22 / 10 | - |
| | RM295 | zz/z/tt | 17 / 31 / 11 | - | zz/z/bb | | | zz/z/tt | 7 / 24 / 10 | - |
| | RM400 | zz/z/tt | 18 / 33 / 11 | - | zz/z/tt | 10 / 13 / 12 | - | zz/z/tt | 10 / 28 / 3 | ** |
| RM340 | zz/z/tt | 16 / 35 / 10 | - | zz/z/bb | 11 / 14 / 12 | - | zz/z/tt | 9 / 30 / 3 | *** | |
| Cromosoma 7 | aris | | | | zz/m- | 8 / 27 / 0 | - | | | |
| | RM542 | ll/m/mm | 16 / 22 / 17 | - | ll/m/mm | 7 / 16 / 13 | - | ll/s/ss | | |
| | RM2 | ff/fm/mm | | | ff/fm/mm | | | ff/fs/ss | 12 / 23 / 6 | - |
| | RM500 | ll/m/mm | | | ll/m/mm | | | ll/s/ss | 12 / 23 / 6 | - |
| | RM182 | ff/fm/mm | | | ff/fm/mm | | | f-/ss | 0 / 33 / 9 | - |
| | RM473C | aa/s- | 22 / 40 / 0 | * | aa/am/mm | | | aa/s- | 17 / 24 / 0 | ** |
| RM234 | ll/m/mm | | | ll/m/mm | | | ll/s/ss | 14 / 19 / 9 | - | |
| Crom. 8 | RM72 | ff/fs/ss | | | ff/fb/bb | 9 / 16 / 11 | - | ff/fs/ss | | |
| | RM44 | ll/s/ss | | | ll/b/bb | 8 / 16 / 13 | - | ll/s/ss | | |
| | RM294B | ll/t/tt | | | l-/bb | 0 / 21 / 14 | ** | ll/t/tt | | |
| | RM42 | zz/z/tt | 12 / 34 / 15 | - | zz/z/tt | 7 / 17 / 12 | - | zz/z/tt | 10 / 24 / 8 | - |
| | RM447 | zz/t- | 16 / 45 / 0 | - | zz/t- | 6 / 30 / 0 | - | zz/t- | 12 / 29 / 0 | - |
| Cr. 9 | RM316 | zz/z/tt | 15 / 34 / 12 | - | zz/z/tt | 7 / 19 / 10 | - | zz/z/tt | 6 / 25 / 11 | - |
| | RM215 | zz/z/tt | 20 / 30 / 11 | - | zz/z/tt | 5 / 25 / 6 | * | zz/z/tt | 8 / 22 / 12 | - |
| Crom. 10 | RM222 | zz/zm/mm | | | ll/m/mm | 6 / 17 / 13 | - | zz/zm/mm | | |
| | RM216 | ll/s/ss | | | ll/m/mm | 21 / 5 / 7 | ***** | ll/s/ss | | |
| | RM184 | ff/fs/ss | | | ff/fs/ss | | | ff/fm/mm | 8 / 23 / 11 | - |
| | RM171 | zz/z/tt | 13 / 27 / 21 | - | zz/z/bb | | | zz/z/tt | 9 / 24 / 8 | - |
| | RM333 | zz/zs/ss | 14 / 30 / 17 | - | zz/z/bb | 11 / 12 / 5 | - | zz/zs/ss | 12 / 18 / 10 | - |
| Crom. 11 | RM21 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 4 / 20 / 12 | - | ff/ft/tt | | |
| | RM206 | ff/fm/mm | | | ff/b- | 5 / 32 / 0 | - | ff/e- | 13 / 27 / 0 | - |
| | RM105 | ll/t/tt | | | l-/bb | 0 / 23 / 12 | - | l-/bb | 0 / 34 / 8 | - |
| | RM144 | ll/s/ss | | | ll/b/bb | 5 / 23 / 8 | - | ll/m/mm | 11 / 20 / 11 | - |
| | RM224 | ff/fs/ss | | | ff/fb/bb | 3 / 24 / 7 | ** | ff/fe/ee | 13 / 15 / 10 | - |
| Crom. 12 | RM20A | zz/z/tt | 15 / 30 / 11 | - | ll/t/tt | | | ll/t/tt | | |
| | RM453 | ll/s/ss | | | ll/m/mm | 12 / 17 / 7 | - | ll/m/mm | 15 / 12 / 15 | ** |
| | RM101 | zz/ze/ee | 21 / 25 / 15 | - | zz/z/bb | 13 / 17 / 6 | - | zz/ze/ee | 17 / 12 / 13 | ** |
| | RM260 | ll/s/ss | | | ll/m/mm | 11 / 18 / 7 | - | ll/s/ss | | |
| | RM309 | ff/ft/tt | | | ff/fb/bb | 9 / 18 / 9 | - | ff/ft/tt | | |

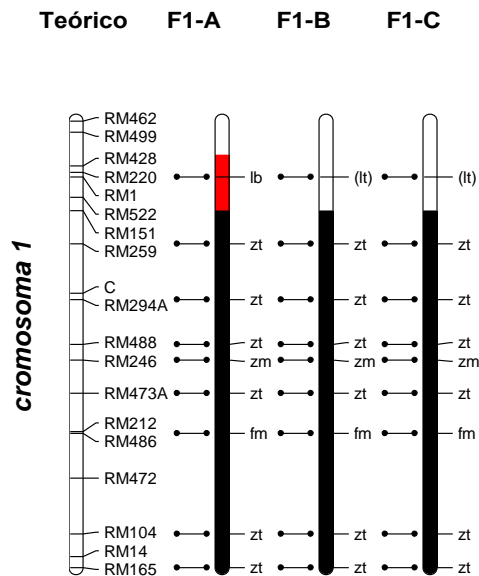
La subfamilia con mayor porcentaje de polimorfismo es la B con un 37% del total de marcadores cribados, seguida por la C con un 34%, y la menos polimórfica es la subfamilia A, con un 25%. También es la subfamilia B en la que se detectan mayor número de alelos de procedencia desconocida, ya que tiene 30 marcadores con algún alelo de origen incierto, mientras que en las subfamilias A y C hay 13 y 10, respectivamente. La mayor parte de estos alelos provienen del parental masculino; sólo en cuatro marcadores estos alelos provienen del parental femenino y son comunes a las 3 subfamilias. Sin embargo, cuando estos alelos proceden del parental masculino, no siempre son comunes a las tres subfamilias, como ocurre en el marcador RM422 visto anteriormente.

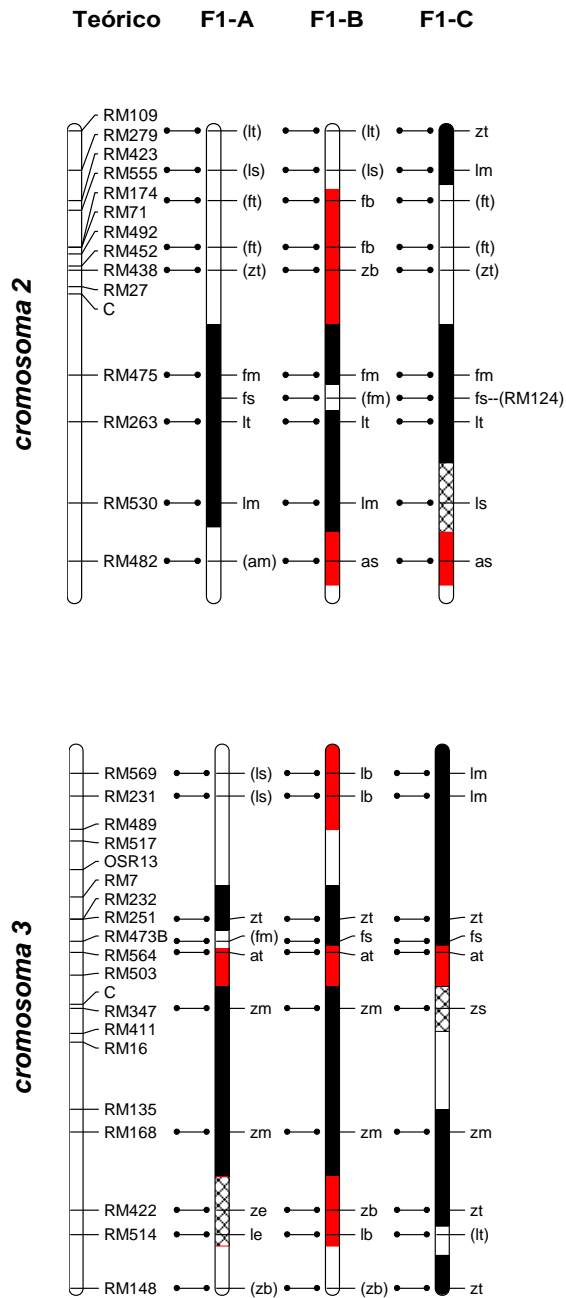
Por otra parte, respecto a las zonas del genoma que resultaron conservadas en las tres subfamilias, sólo el 27% de los marcadores coincide en las tres. Las subfamilias A y C son más similares entre sí, pues tienen un 57% de marcadores en común, mientras que la subfamilia B comparte sólo un 44% de los marcadores con la subfamilias C y un 43% con la A. Estas diferencias entre subfamilias se deben principalmente a diferencias en los alelos del parental masculino, concretamente en 36 marcadores. Sólo en 3 marcadores las diferencias entre subfamilias son consecuencia de las diferencias alélicas del parental femenino.

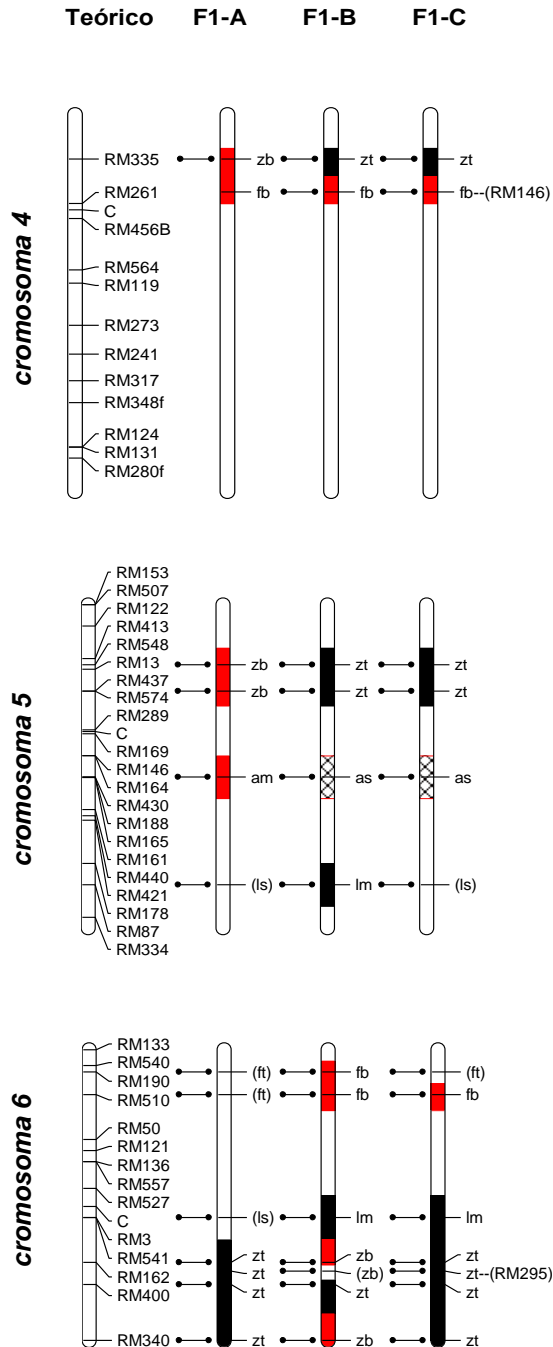
La distribución de polimorfismos no fue uniforme a lo largo del genoma. En algunos cromosomas, como el 1, el 2, el 3 y el 6, se concentran la mayor parte de los marcadores polimórficos; en cambio, en otros, como en los cromosomas 4, 8, 9 y el 11 y especialmente en la subfamilia A, apenas se encuentran zonas segregantes.

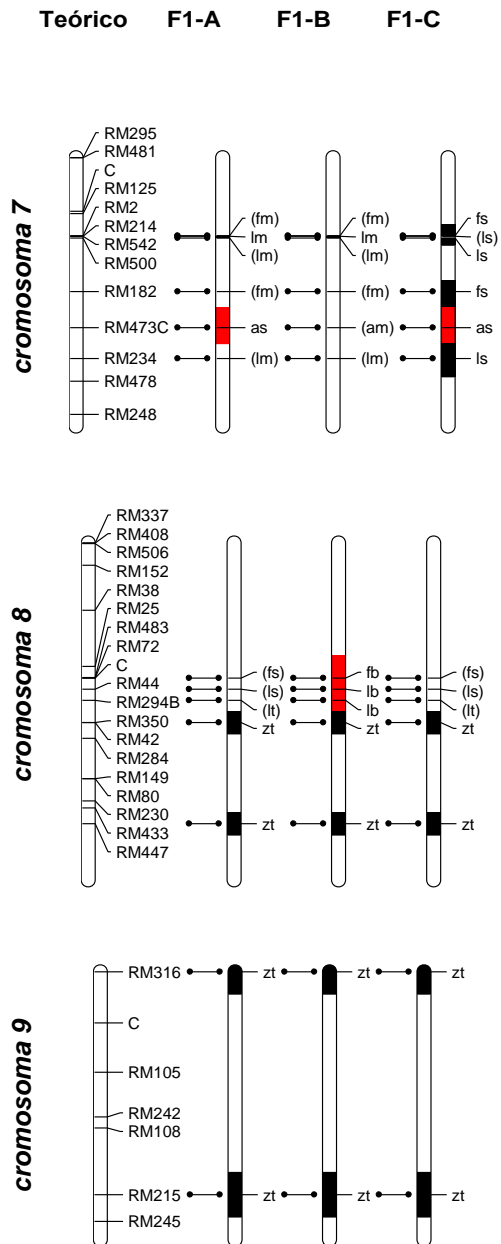
La figura 17 muestra los mapas genéticos con los marcadores que segregan en cada subfamilia, junto con el denominado mapa teórico; este muestra el orden esperado de todos los marcadores cribados en busca de polimorfismos, así como las distancias aproximadas entre ellos, según diversos mapas consultados en www.gramene.org.

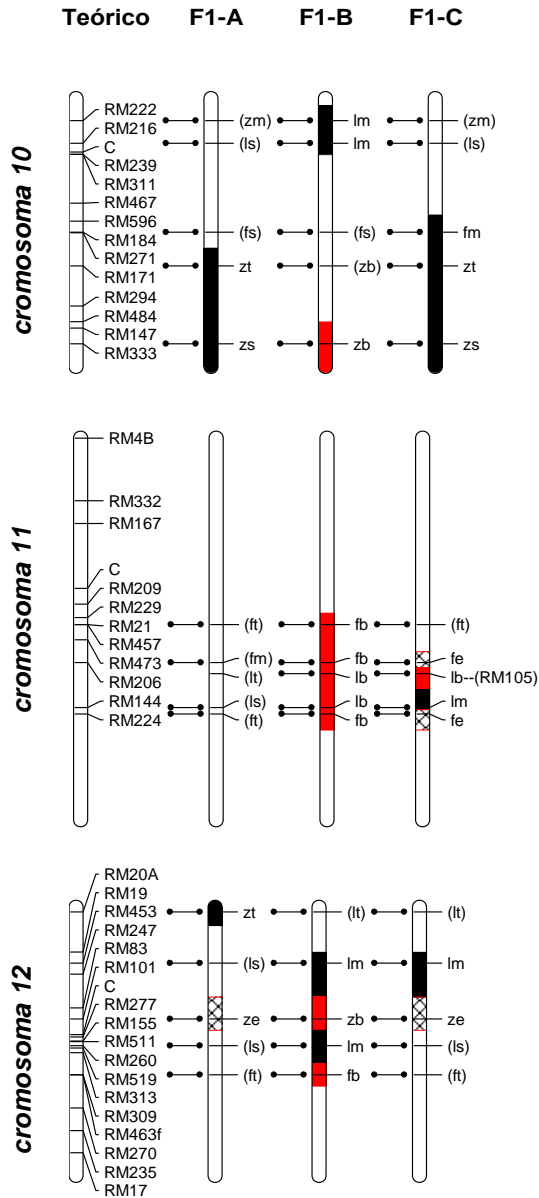
Figura 17. Mapa genético de las tres plantas híbridas que dieron lugar a F2MS. El mapa teórico muestra la posición esperada de todos los marcadores analizados inicialmente en busca de polimorfismos. C es la posición aproximada del centrómero. El mapa de las F1 muestra los marcadores que segregaron en cada subfamilia, junto con los genotipos en cada locus. Los genotipos entre paréntesis no presentan polimorfismos detectables y no segregaron en F2. Se han coloreado las regiones que contienen los marcadores que segregan con el siguiente código de color: negro para los polimorfismos entre alelos de origen conocido y rojo cuando alguno de los alelos es de procedencia desconocida. Se han utilizado diferentes tramas en un marcador si hay distintos alelos en las subfamilias. Denominación de los alelos según los códigos de la tabla 5.





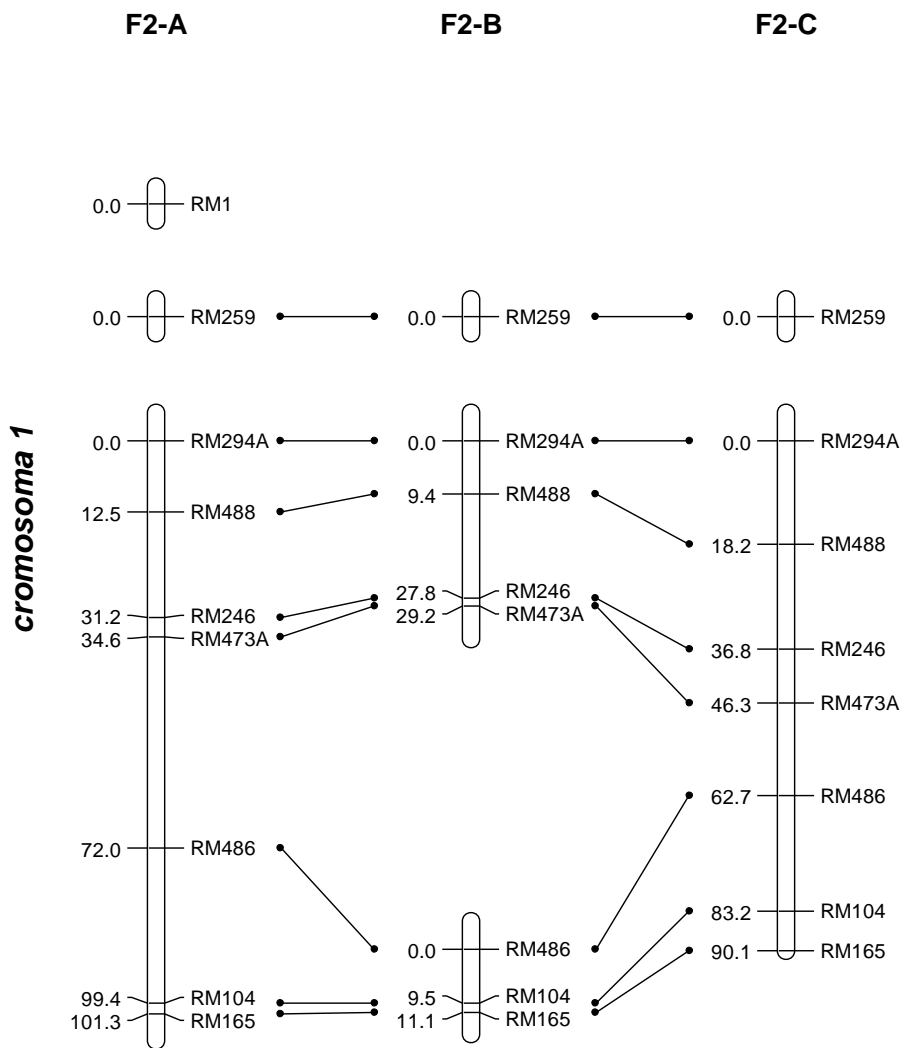


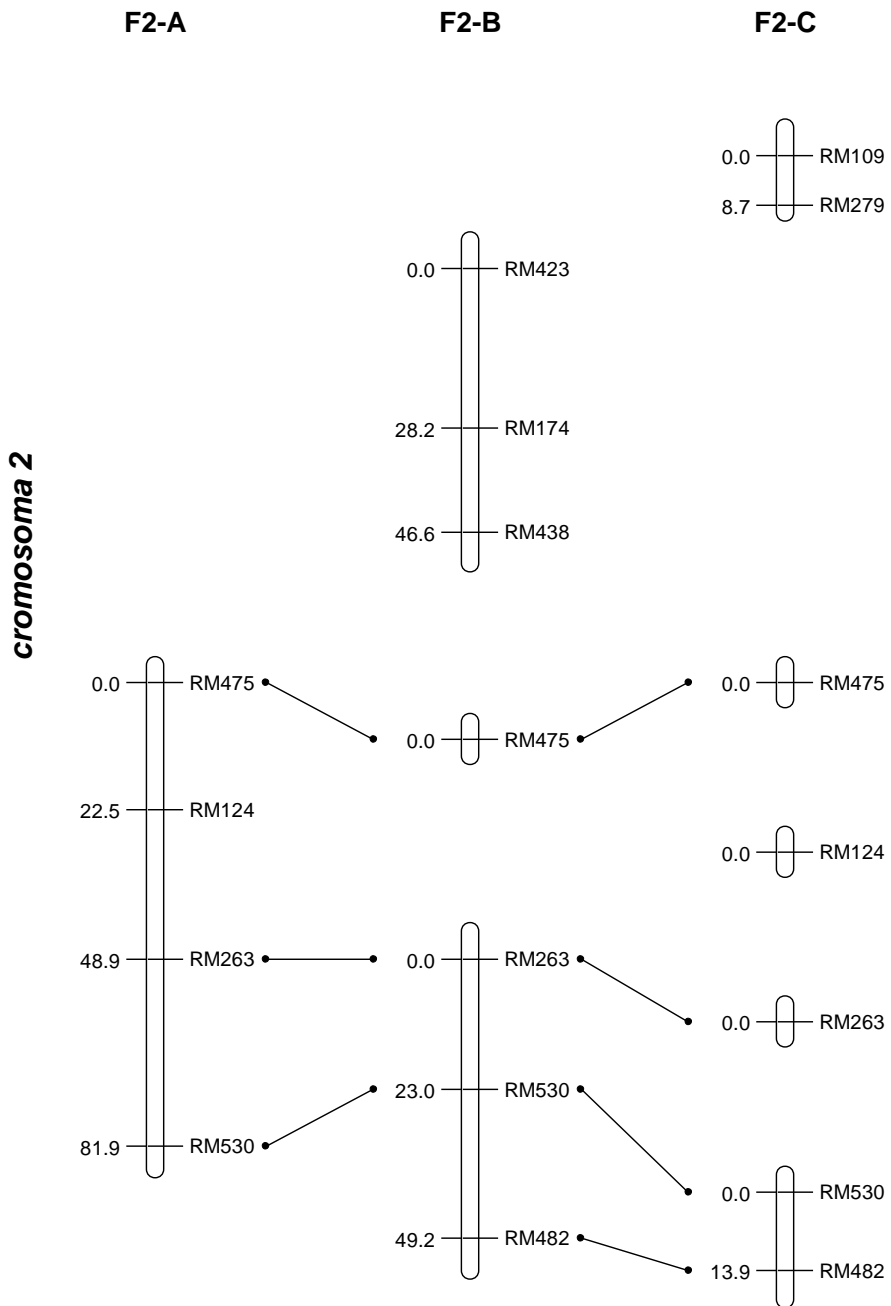


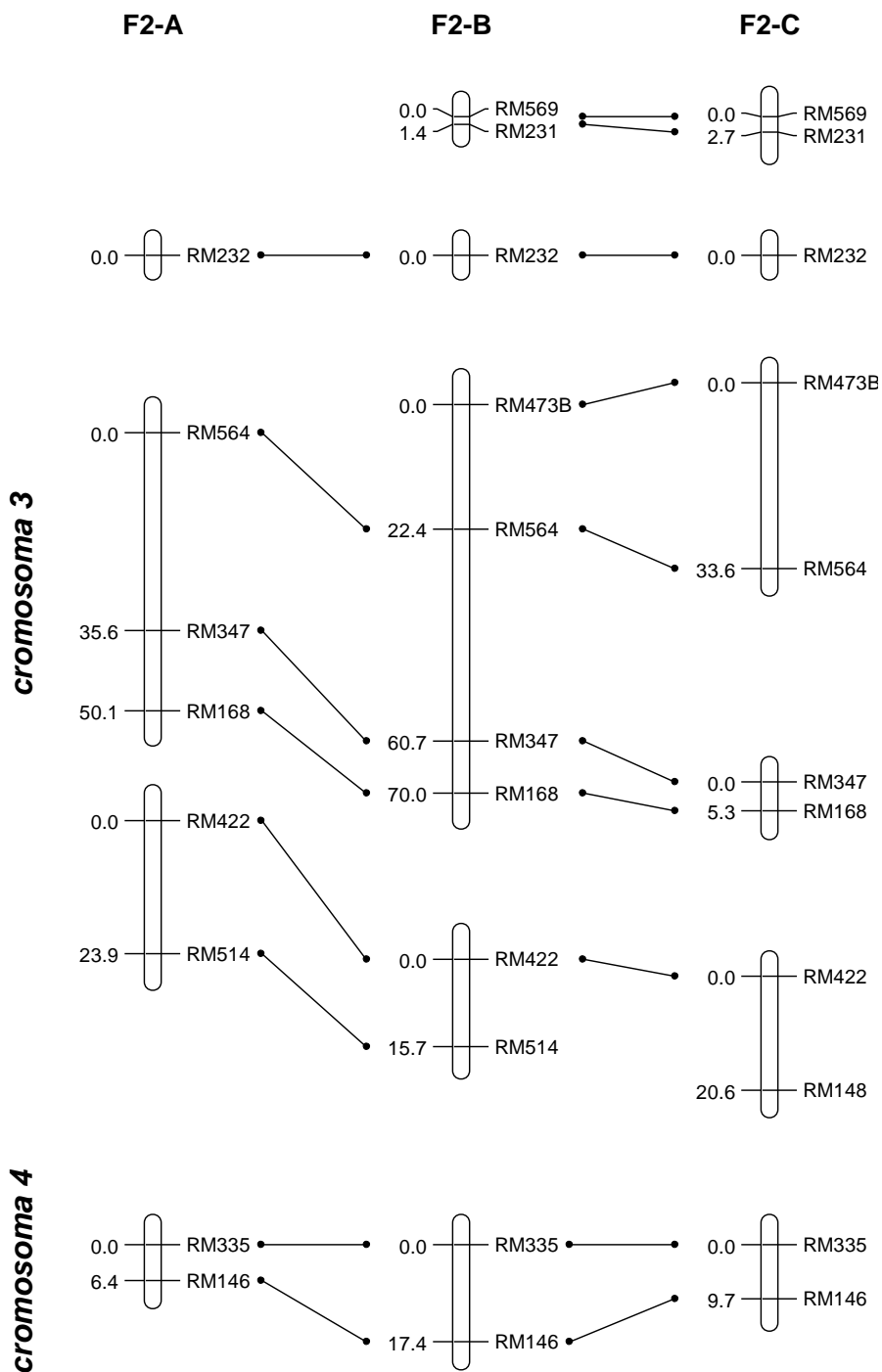


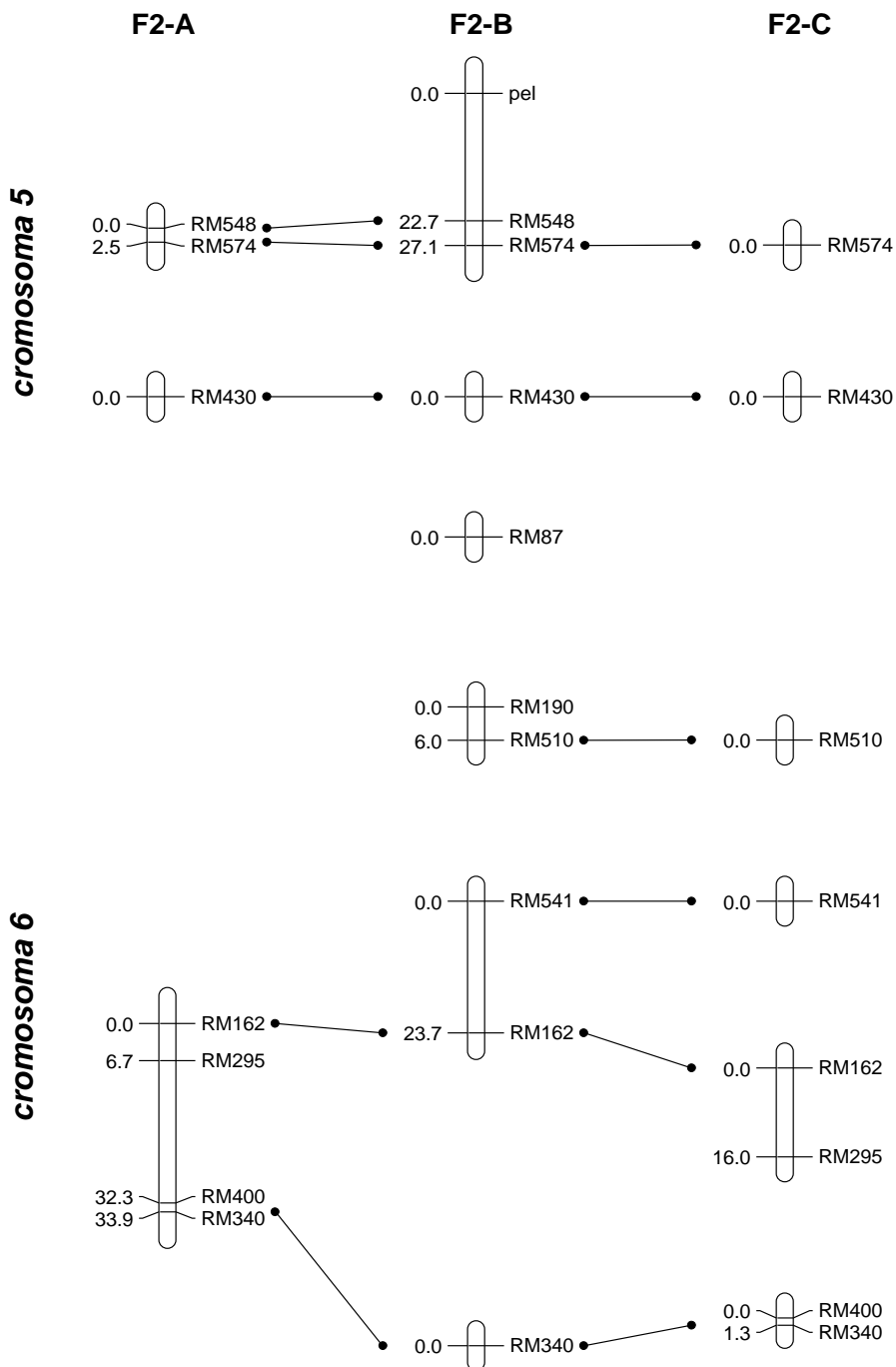
Una vez divididos los individuos de F2MS en subfamilias, se procedió a obtener los mapas de ligamiento de cada una de ellas (figura 18). Generalmente, se recomienda aceptar ligamientos con umbrales de confianza superiores a LOD 3 (fiabilidad del 95%). Además, se han incluido dos marcadores morfológicos que en la subfamilia F2MS-B segregaron como caracteres cualitativos: por una parte, se observó presencia o ausencia de pelos en las glumas y las hojas según la proporción 3:1, respectivamente. Este marcador, al que hemos denominado *pel*, mostró ligamiento con los marcadores RM548 y RM574 del cromosoma 5, siendo la pilosidad dominante y ligada al alelo del parental femenino. Esto coincide con los resultados obtenidos por otros autores que localizaron en esta región del genoma el gen *gl-1* (cáscara y hojas glabras; Yu y col., 1995; Yamamoto y col., 1997b). Por otra parte, la presencia o ausencia de aristas segregó según la proporción 1:3. Este marcador, al que hemos denominado *aris*, formó un grupo de ligamiento con el marcador RM542 situado en el cromosoma 7, siendo dominante la ausencia de aristas determinada por el alelo del parental masculino. En las otras dos subfamilias no se observó segregación en cuanto a la presencia o ausencia de pelos ya que todos los granos y las hojas resultaron pilosos. Respecto a la presencia o ausencia de aristas, sí que se observó segregación en todas las subfamilias; sin embargo, sólo en la B pudo ser situado en el mapa genético. Esto es probablemente debido, a que en esta subfamilia la pilosidad está bajo un control monogénico, mientras que en las otras dos, las frecuencias de los fenotipos indican la acción de más de un gen; esto está de acuerdo con la observación de Chandraratna (1964) de que la variación en este carácter puede deberse a la acción de uno a tres genes.

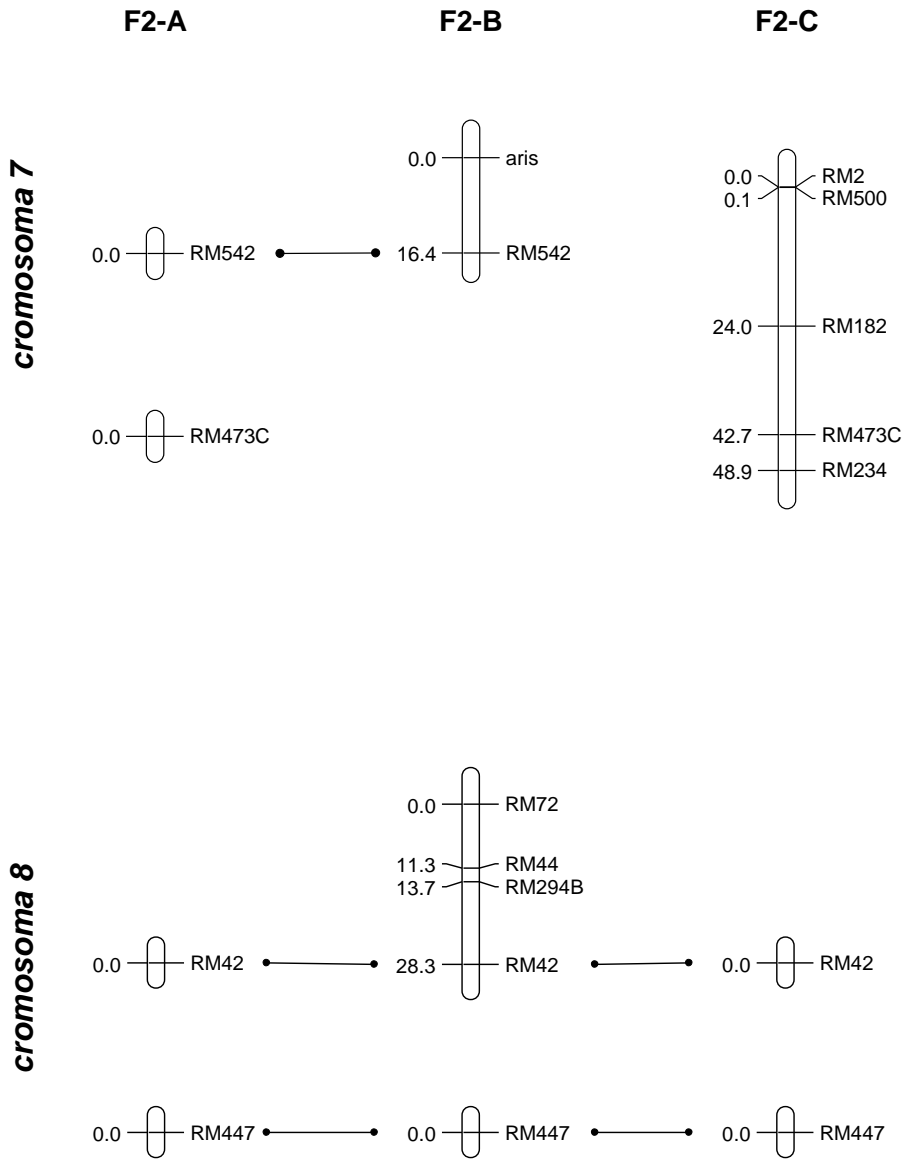
Figura 18. Mapas de ligamiento de las subfamilias de F2MS. Distancias expresadas en cM.

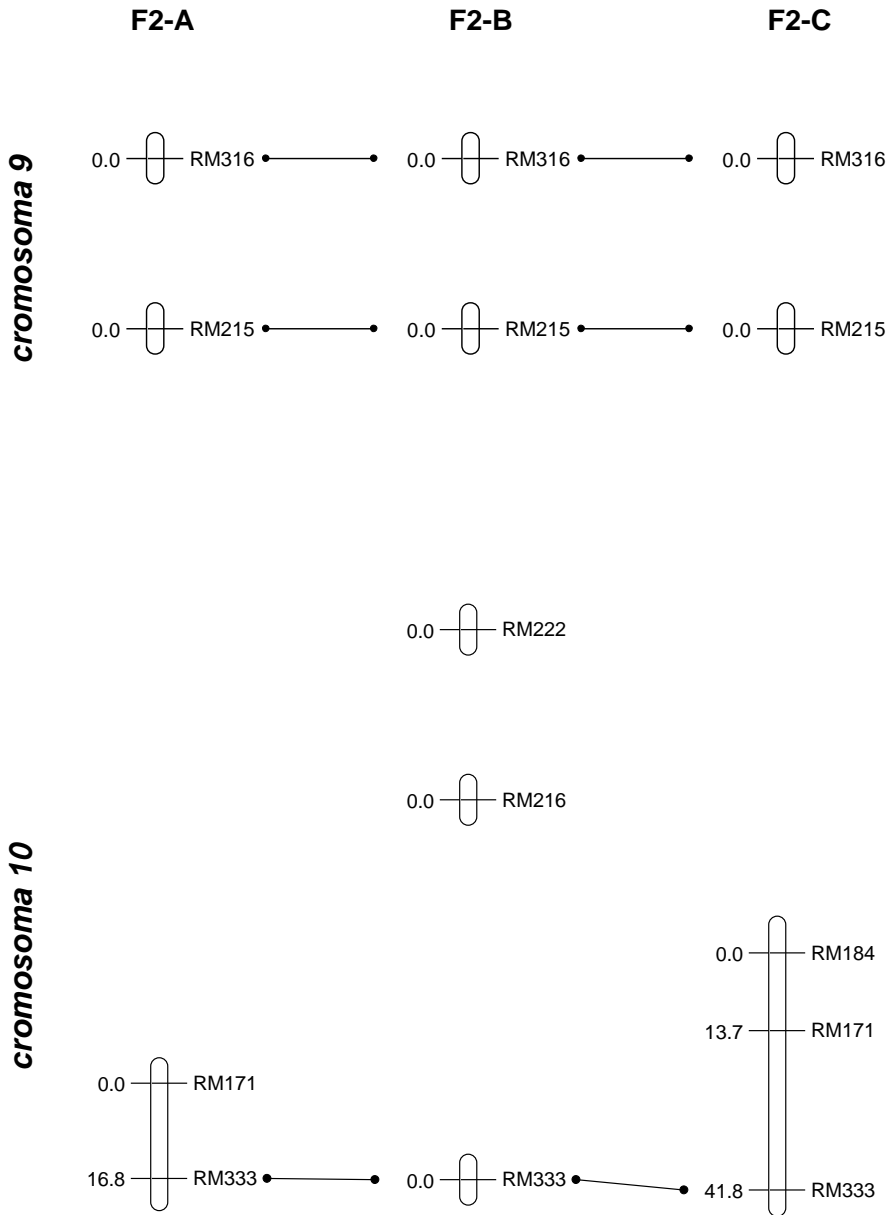


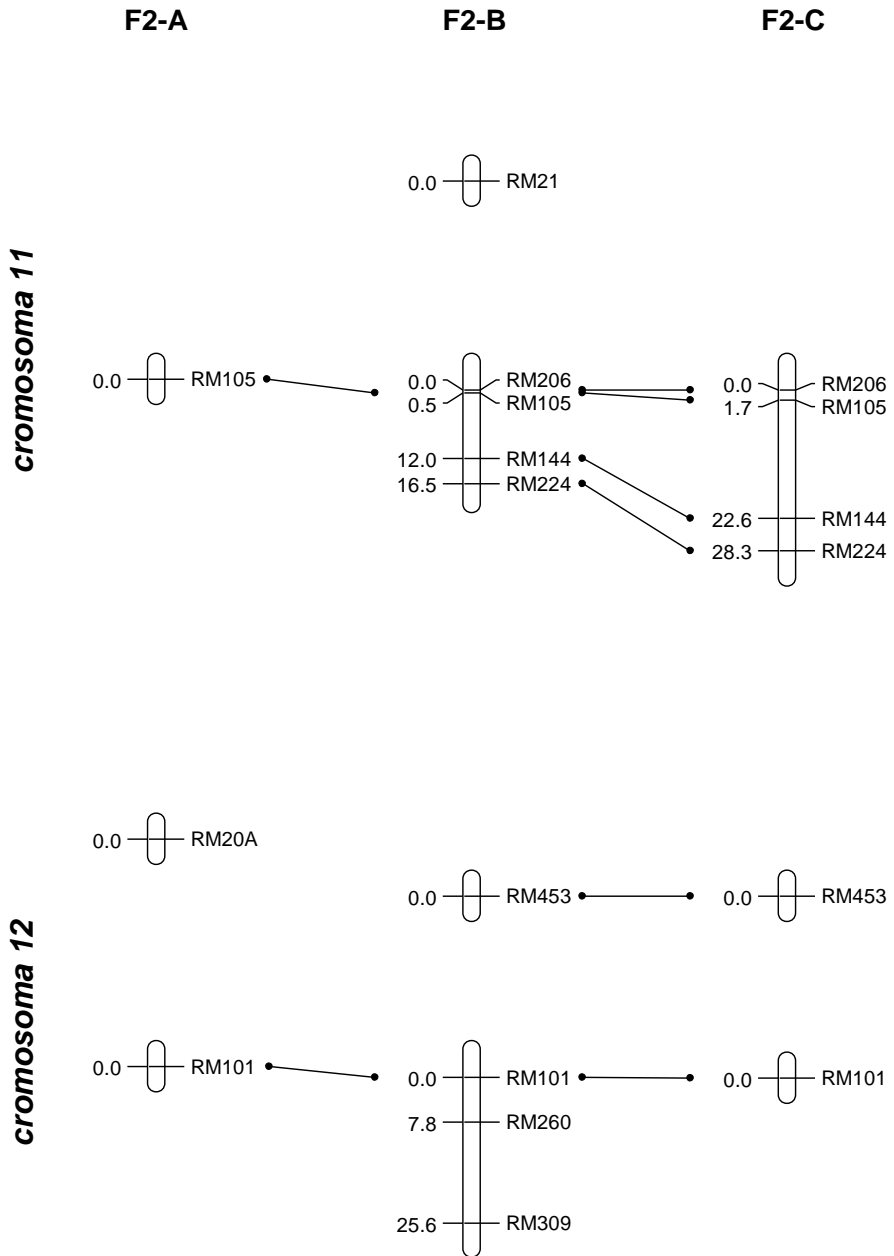












Algunos marcadores amplificaron más de una banda (RM259, RM486, RM104, RM347, RM124, RM564, RM146, RM87, RM400, RM295, RM316, RM105, RM294, RM473, RM20A, RM453), pues existe cierta redundancia entre los marcadores SSR. En algunos casos sólo una de las bandas mostró segregación y en otros hubo segregación en más de un locus. En tales casos se añadieron letras por orden alfabético al final del nombre del marcador para designar a cada uno de los loci polimórficos. El análisis de ligamiento permitió asignar cada uno de estos loci a diferentes puntos del genoma. Algunos de estos loci se localizaron en regiones cromosómicas en las que no se habían descrito con anterioridad, tal como ocurre con los marcadores RM124 en el cromosoma 2, RM146 en el cromosoma 4, RM195 en el cromosoma 6 y RM 105 en el cromosoma 11. Estas diferencias respecto al “mapa teórico” son explicables ya que los mapas publicados en los que nos basamos fueron construidos a partir de germoplasma a menudo muy alejado genéticamente del utilizado en este estudio; de esta manera, cebadores que tienen homología con secuencias SSR duplicadas en diferentes puntos del genoma, pueden detectar polimorfismos en loci diferentes según los genotipos analizados.

4.2. Análisis cuantitativo de las dos poblaciones

El análisis cuantitativo se realizó con los datos obtenidos en las dos poblaciones, J y MS. Sin embargo, tras el estudio genético de la población F2MS los análisis cuantitativos se realizaron teniendo en cuenta que está compuesta en realidad por la descendencia de tres F1 diferentes. A la descendencia de cada F1MS se le llamó respectivamente F2MS-A, F2MS-B y F2MS-C y a la siguiente generación F3MS-A, F3MS-B y F3MS-C. Sin embargo, ya que el parental femenino de las dos poblaciones es común y en el estudio genético se ha observado que la mayor parte de las diferencias alélicas entre subfamilias proviene del parental masculino (sólo en 3 loci las diferencias entre subfamilias son debidas a diferentes alelos en el parental femenino), para los análisis de comparación de ambientes en F2 se ha considerado el conjunto de la población F2MS y, por coherencia, se ha incluido también la F3MS como conjunto.

4.2.1. Distribución de los caracteres

La primera aproximación a los datos fue un análisis de la distribución de cada carácter en las diferentes poblaciones y ambientes (campo y bassetas): se

elaboraron histogramas, se representaron los datos en papel probabilístico normal y se analizaron los valores de asimetría y de curtosis para comprobar si se trataba de distribuciones normales (datos no mostrados). La mayoría de los caracteres en las distintas combinaciones población-ambiente mostraron una distribución normal; sólo algunos caracteres necesitaron transformación para que se ajustaran a la normalidad: al número de panículas y a la resistencia al doblado se aplicó una transformación logarítmica. El porcentaje de perlado se transformó mediante el arcoseno de su raíz cuadrada, pues los porcentuales calculados a partir de sucesos elementales de tipo presencia/ausencia se distribuyen binomialmente, y esta transformación comprime las colas de dicha distribución. El diámetro en F3 se transformó mediante la función inversa, que comprime los valores altos y expande los bajos.

En la tabla 7 se indican las abreviaturas utilizadas para los caracteres analizados. Las heredabilidades y los ANOVAs de los caracteres en los que se han tomado más de una medida por planta (longitud de panícula, de hoja y diámetro del tallo) fueron calculados teniendo en cuenta todos los datos; a estos casos se refieren las abreviaturas Lpan, Lhoja y DiamA. Mientras que para los cálculos de correlaciones entre caracteres, las comparaciones de intervalos de MDS y el análisis de QTLs, se usaron los valores medios por planta (con las abreviaturas LpanM, LhojaM y DiamAM). Como se ha comentado anteriormente, en F3 se tomó un único valor por línea de porte, ya que se observó una alta uniformidad dentro de línea como puede verse en la figura 19.



Figura 19. Aspecto del porte de las líneas F3.

| Abreviatura | Descripción del carácter |
|---------------|---|
| Alt | Altura de la planta |
| Ltallo | Longitud del tallo |
| Lpan | Longitud de la panícula |
| LpanM | Longitud de la panícula (valor medio por planta) |
| Lhoja | Longitud de la hoja bandera |
| LhojaM | Longitud de la hoja bandera (valor medio por planta) |
| Entrn | Longitud del segundo entrenudo |
| EntrnM | Longitud del segundo entrenudo (valor medio por planta) |
| NpanT | Número de panículas de la planta (logaritmo) |
| Pestot | Peso total de las panículas de la planta |
| Pespan | Peso medio de la panícula |
| P100 | Peso de 100 granos |
| DiamA | Diámetro del penúltimo entrenudo (sólo en F2) |
| DiamAM | Diámetro del penúltimo entrenudo (valor medio por planta, sólo en F2) |
| DiamT | Diámetro del penúltimo entrenudo (función inversa, sólo en F3) |
| DobIT | Resistencia al doblado (logaritmo) |
| Porte | Grado de abertura de la planta |
| Madur | Duración del ciclo hasta la maduración |
| L | Longitud del grano |
| A | Anchura del grano |
| L/A | Relación longitud/anchura del grano |
| PerIT | Porcentaje de perlado (arcoseno de la raíz cuadrada) |
| TMp | Tamaño medio de la perla |

Tabla 7. Abreviaturas de los caracteres analizados.

4.2.2. Valoración de los parentales

En el año 2005 se sembraron en la misma parcela que las líneas F3 los parentales ((Z9 x Leda), (Marjal x Senia) y Jsendra), así como los progenitores de éstos: M202, Senia, Z9, Leda, y Marjal. Las líneas (Z9 x Leda) y (Marjal x Senia) utilizadas para estos ensayos fueron en realidad la siguiente generación de las líneas que se utilizaron para realizar los cruzamientos en que se obtuvieron las poblaciones J y MS, es decir, una F7 de (Z9 x Leda) y una F10 de (Marjal x Senia). Ya que las valoraciones sólo se hicieron ese año, no es posible hacer una comparación con los datos en las plantas F2; sin embargo, pueden servir como referencia para interpretar los resultados de las poblaciones. En la tabla 8 se muestran los valores de los caracteres estudiados en todos los progenitores.

| | Z9 | Z9xLeda | Leda | M202 | Jsendra | Senia | MarjalxSenia | Marjal |
|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| Alt | 96.50 ± 2.26 | 95.83 ± 2.71 | 107.83 ± 2.14 | 110.33 ± 3.33 | 83.00 ± 1.00 | 98.50 ± 2.17 | 90.67 ± 2.42 | 84.50 ± 1.64 |
| Ltallo | 78.37 ± 2.70 | 76.08 ± 2.08 | 92.62 ± 2.33 | 88.90 ± 2.85 | 67.07 ± 1.00 | 82.48 ± 2.28 | 74.89 ± 1.52 | 68.06 ± 1.68 |
| LpanM | 18.13 ± 0.69 | 19.75 ± 0.83 | 15.21 ± 0.63 | 21.43 ± 0.77 | 15.93 ± 0.62 | 16.02 ± 0.33 | 15.78 ± 1.94 | 16.44 ± 0.56 |
| EntrM | 14.76 ± 1.25 | 15.78 ± 1.11 | 13.38 ± 2.29 | 17.90 ± 2.27 | 10.40 ± 0.40 | 12.94 ± 1.57 | 14.86 ± 1.06 | 13.08 ± 1.69 |
| NpanT | 1.24 ± 0.21 | 1.09 ± 0.10 | 1.27 ± 0.24 | 1.02 ± 0.08 | 1.24 ± 0.08 | 0.99 ± 0.09 | 1.26 ± 0.03 | 1.10 ± 0.09 |
| Pestot | 66.00 ± 30.29 | 55.00 ± 14.01 | 88.50 ± 31.23 | 50.67 ± 6.44 | 74.60 ± 10.21 | 47.17 ± 7.47 | 79.00 ± 11.78 | 57.17 ± 12.81 |
| Pespan | 3.45 ± 0.27 | 4.32 ± 0.62 | 4.33 ± 0.33 | 4.81 ± 0.62 | 4.31 ± 0.27 | 4.88 ± 0.47 | 4.36 ± 0.63 | 4.49 ± 0.22 |
| P100 | 2.87 ± 0.05 | 3.05 ± 0.05 | 3.05 ± 0.10 | 3.28 ± 0.15 | 3.46 ± 0.09 | 3.42 ± 0.12 | 3.53 ± 0.37 | 3.10 ± 0.11 |
| DiamT | 1.30 ± 0.10 | 1.24 ± 0.04 | 1.44 ± 0.05 | 1.28 ± 0.08 | 1.34 ± 0.06 | 1.50 ± 0.14 | 1.50 ± 0.17 | 1.49 ± 0.08 |
| DoblT | 0.59 ± 0.20 | 0.54 ± 0.14 | 0.59 ± 0.13 | 0.66 ± 0.16 | 0.58 ± 0.09 | 0.57 ± 0.11 | 0.61 ± 0.08 | 0.63 ± 0.13 |
| Porte | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Madur | 139 | 133 | 133 | 127 | 139 | 125 | 139 | 139 |
| L | 6.16 ± 0.13 | 6.40 ± 0.07 | 6.53 ± 0.06 | 6.00 ± 0.43 | 5.86 ± 0.05 | 6.35 ± 0.05 | 6.59 ± 0.42 | 6.26 ± 0.10 |
| A | 3.18 ± 0.03 | 3.15 ± 0.02 | 3.14 ± 0.03 | 3.33 ± 0.05 | 3.56 ± 0.02 | 3.29 ± 0.04 | 3.44 ± 0.29 | 3.21 ± 0.05 |
| L/A | 1.94 ± 0.05 | 2.03 ± 0.03 | 2.08 ± 0.02 | 1.80 ± 0.14 | 1.65 ± 0.01 | 1.93 ± 0.03 | 1.940 ± 0.33 | 1.95 ± 0.03 |
| PerIT | 0 | 54.44 ± 4.56 | 0 | 71.80 ± 7.01 | 67.49 ± 5.55 | 59.59 ± 7.35 | 72.35 ± 4.54 | 0 |
| Tmp | 0 | 0.93 ± 0.20 | 0 | 1.48 ± 0.11 | 1.50 ± 0.20 | 1.52 ± 0.36 | 1.94 ± 0.12 | 0 |

Tabla 8. Media y desviación típica de los caracteres estudiados en las líneas parentales de las poblaciones J y MS, y sus respectivos progenitores. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

4.2.3. Medias y heredabilidades en las poblaciones

La tabla 9 muestra los valores de las medias y las heredabilidades de cada carácter en las diferentes generaciones y combinaciones población-ambiente. Comparando las medias entre los dos ambientes en los que se transplantaron las plantas F2, se observa que la mayoría de caracteres no parecen verse muy afectados por las diferencias ambientales. Los caracteres más afectados son los relacionados con la producción: el número de panículas y el peso total muestran un importante aumento al ser cultivadas en campo respecto al cultivo en bassetas (duplicando, o incluso, cuadruplicando los valores), siendo este incremento más notable en F2J. Casi todos los valores mostraron valores medios mayores en campo que en bassetas, aunque el aumento del peso de la panícula y del grosor del tallo no fue tan pronunciado como en los casos anteriores. Las excepciones fueron la longitud de hoja bandera y el porte (las plantas fueron menos abiertas en campo). Sin embargo, los valores medios de la altura y la longitud del tallo se ven afectados de manera distinta según el genotipo: en el campo las plantas F2J son más altas que en basseta, mientras que las F2MS, tanto globalmente como sus subfamilias, son más bajas en campo.

En general, parece que el cultivo en campo favorece el potencial de desarrollo de las plantas en casi todos los caracteres estudiados. Sin embargo, la

validez de las diferencias entre ambientes y entre genotipos ha sido comprobada mediante los correspondientes ANOVAs, como se describe más adelante.

Tabla 9. Medias, desviaciones típicas (SD), heredabilidades en sentido amplio (H^2 , en F2 y F3) y en sentido estricto (h^2 , en F3) de todos los caracteres medidos. Las poblaciones F2J y MS, y las subpoblaciones de ésta (A, B y C) se analizaron en dos ambientes, campo y balsetas, en 2004; las F3 derivadas de las anteriores, sólo en campo, en 2005. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

| Carácter | Población | Campo | | | Balsetas | |
|----------|-----------|----------------|-------|-------|----------------|-------|
| | | media \pm SD | H^2 | h^2 | media \pm SD | H^2 |
| Alt | F2J | 89.5 \pm 8.0 | 0,80 | - | 84.8 \pm 7.9 | 0,94 |
| | F2MS | 84.5 \pm 8.8 | 0,80 | - | 90.7 \pm 7.3 | 0,99 |
| | F2MS-A | 86.4 \pm 9.5 | 0,83 | - | 92.4 \pm 6.8 | 0,99 |
| | F2MS-B | 83.6 \pm 9.0 | 0,81 | - | 86.8 \pm 6.1 | 0,98 |
| | F2MS-C | 82.7 \pm 7.3 | 0,71 | - | 90.8 \pm 7.9 | 0,99 |
| | F3J | 87.1 \pm 8.9 | 0,77 | 0,77 | - | - |
| | F3MS | 86.8 \pm 9.0 | 0,50 | 0,34 | - | - |
| | F3MS-A | 87.7 \pm 8.9 | 0,54 | 0,20 | - | - |
| | F3MS-B | 84.9 \pm 8.8 | 0,45 | 0,43 | - | - |
| | F3MS-C | 85.8 \pm 9.1 | 0,47 | 0,46 | - | - |
| Ltallo | F2J | 72.6 \pm 6.9 | 0,72 | - | 68.3 \pm 6.1 | 0,93 |
| | F2MS | 66.3 \pm 7.1 | 0,74 | - | 72.7 \pm 5.6 | 0,96 |
| | F2MS-A | 66.8 \pm 7.6 | 0,78 | - | 73.2 \pm 5.7 | 0,96 |
| | F2MS-B | 66.4 \pm 7.7 | 0,78 | - | 70.9 \pm 5.2 | 0,95 |
| | F2MS-C | 65.5 \pm 5.9 | 0,62 | - | 73.3 \pm 5.8 | 0,96 |
| | F3J | 69.6 \pm 7.4 | 0,68 | 0,65 | - | - |
| | F3MS | 68.5 \pm 7.6 | 0,39 | 0,28 | - | - |
| | F3MS-A | 68.2 \pm 7.4 | 0,43 | 0,14 | - | - |
| | F3MS-B | 68.2 \pm 7.6 | 0,37 | 0,37 | - | - |
| | F3MS-C | 67.6 \pm 7.7 | 0,39 | 0,39 | - | - |
| Lpan | F2J | 16.9 \pm 2.1 | 0,49 | - | 16.5 \pm 2.5 | 0,75 |
| | F2MS | 18.2 \pm 2.9 | 0,67 | - | 17.7 \pm 2.9 | 0,71 |
| | F2MS-A | 19.7 \pm 3.0 | 0,69 | - | 18.9 \pm 2.8 | 0,70 |
| | F2MS-B | 17.3 \pm 2.3 | 0,34 | - | 15.6 \pm 2.3 | 0,54 |
| | F2MS-C | 17.2 \pm 2.5 | 0,66 | - | 17.6 \pm 2.7 | 0,62 |
| | F3J | 17.4 \pm 2.6 | 0,87 | 0,87 | - | - |
| | F3MS | 18.3 \pm 3.0 | 0,86 | 0,86 | - | - |
| | F3MS-A | 19.6 \pm 2.9 | 0,82 | 0,82 | - | - |
| | F3MS-B | 16.7 \pm 2.6 | 0,80 | 0,80 | - | - |
| | F3MS-C | 17.7 \pm 2.6 | 0,79 | 0,79 | - | - |

| Carácter | Población | Campo | | | Balsetas | |
|----------|-----------|-----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|
| | | media \pm SD | H ² | h ² | media \pm SD | H ² |
| Lhoja | F2J | 20.8 \pm 4.1 | 0,00 | - | 22.3 \pm 5.0 | 0,55 |
| | F2MS | 22.5 \pm 5.0 | 0,39 | - | 24.0 \pm 4.8 | 0,50 |
| | F2MS-A | 24.2 \pm 5.0 | 0,31 | - | 24.7 \pm 4.6 | 0,51 |
| | F2MS-B | 20.7 \pm 5.2 | 0,38 | - | 21.4 \pm 4.3 | 0,38 |
| | F2MS-C | 21.8 \pm 4.2 | 0,35 | - | 24.8 \pm 4.8 | 0,46 |
| Entrn | F3J | 12.9 \pm 2.4 | 0,14 | 0,14 | - | - |
| | F3MS | 11.5 \pm 2.4 | 0,11 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 11.4 \pm 2.3 | 0,13 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 11.2 \pm 2.3 | 0,10 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-C | 12.1 \pm 2.3 | 0,13 | 0,00 | - | - |
| NpanT | F2J | 1.25 \pm 0.14 | 0,00 | - | 0.73 \pm 0.13 | 0,00 |
| | F2MS | 1.08 \pm 0.11 | 0,00 | - | 0.72 \pm 0.11 | 0,39 |
| | F2MS-A | 1.07 \pm 0.09 | 0,00 | - | 0.71 \pm 0.10 | 0,23 |
| | F2MS-B | 1.12 \pm 0.12 | 0,00 | - | 0.75 \pm 0.12 | 0,45 |
| | F2MS-C | 1.06 \pm 0.13 | 0,00 | - | 0.73 \pm 0.13 | 0,51 |
| | F3J | 1.07 \pm 0.14 | 0,05 | 0,00 | - | - |
| | F3MS | 1.07 \pm 0.15 | 0,21 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 1.04 \pm 0.16 | 0,32 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 1.07 \pm 0.14 | 0,10 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-C | 1.10 \pm 0.15 | 0,00 | 0,06 | - | - |
| Pestot | F2J | 80.1 \pm 22.1 | 0,40 | - | 20.08 \pm 6.74 | 0,00 |
| | F2MS | 51.0 \pm 11.8 | 0,00 | - | 18.42 \pm 5.77 | 0,00 |
| | F2MS-A | 51.4 \pm 10.7 | 0,00 | - | 19.23 \pm 5.49 | 0,00 |
| | F2MS-B | 52.9 \pm 13.3 | 0,00 | - | 16.40 \pm 5.44 | 0,00 |
| | F2MS-C | 48.6 \pm 11.8 | 0,00 | - | 18.70 \pm 6.34 | 0,07 |
| | F3J | 53.9 \pm 17.6 | 0,39 | 0,00 | - | - |
| | F3MS | 53.7 \pm 19.5 | 0,32 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 52.1 \pm 19.3 | 0,43 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 49.3 \pm 17.8 | 0,08 | 0,01 | - | - |
| | F3MS-C | 59.8 \pm 19.9 | 0,39 | 0,00 | - | - |
| Pespan | F2J | 4.39 \pm 0.66 | 0,91 | - | 3.63 \pm 0.61 | 0,64 |
| | F2MS | 4.19 \pm 0.77 | 0,94 | - | 3.41 \pm 0.74 | 0,78 |
| | F2MS-A | 4.35 \pm 0.75 | 0,94 | - | 3.69 \pm 0.73 | 0,78 |
| | F2MS-B | 3.89 \pm 0.59 | 0,90 | - | 2.86 \pm 0.54 | 0,60 |
| | F2MS-C | 4.25 \pm 0.89 | 0,96 | - | 3.37 \pm 0.66 | 0,73 |
| | F3J | 4.43 \pm 0.75 | 0,49 | 0,43 | - | - |
| | F3MS | 4.37 \pm 0.83 | 0,48 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 4.47 \pm 0.81 | 0,59 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 3.96 \pm 0.72 | 0,33 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-C | 4.24 \pm 0.81 | 0,53 | 0,00 | - | - |

| Carácter | Población | Campo | | | Balsetas | |
|--------------|-----------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | | media \pm SD | H ² | h ² | media \pm SD | H ² |
| P100 | F2J | 3.63 \pm 0.29 | 0,59 | - | 3.59 \pm 0.38 | 0,89 |
| | F2MS | 3.83 \pm 0.26 | 0,55 | - | 3.51 \pm 0.41 | 0,91 |
| | F2MS-A | 3.80 \pm 0.27 | 0,58 | - | 3.60 \pm 0.38 | 0,90 |
| | F2MS-B | 3.80 \pm 0.23 | 0,42 | - | 3.19 \pm 0.29 | 0,83 |
| | F2MS-C | 3.92 \pm 0.28 | 0,60 | - | 3.61 \pm 0.44 | 0,92 |
| DiamA | F2J | 5.05 \pm 0.98 | 0,34 | - | 3.95 \pm 0.87 | 0,24 |
| | F2MS | 5.10 \pm 0.94 | 0,35 | - | 3.87 \pm 0.89 | 0,00 |
| | F2MS-A | 5.38 \pm 0.93 | 0,36 | - | 3.97 \pm 0.89 | 0,00 |
| | F2MS-B | 4.95 \pm 0.90 | 0,24 | - | 3.77 \pm 0.85 | 0,00 |
| | F2MS-C | 4.87 \pm 0.87 | 0,30 | - | 3.80 \pm 0.90 | 0,08 |
| DiamT | F3J | 1.41 \pm 0.22 | 0,62 | 0,07 | - | - |
| | F3MS | 1.34 \pm 0.16 | 0,00 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 1.30 \pm 0.15 | 0,00 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 1.38 \pm 0.16 | 0,00 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-C | 1.32 \pm 0.15 | 0,00 | 0,00 | - | - |
| DobIT | F3J | 0.54 \pm 0.14 | 0,68 | 0,00 | - | - |
| | F3MS | 0.47 \pm 0.15 | 0,65 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-A | 0.47 \pm 0.15 | 0,65 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-B | 0.46 \pm 0.14 | 0,68 | 0,00 | - | - |
| | F3MS-C | 0.47 \pm 0.16 | 0,62 | 0,00 | - | - |
| Porte | F2J | 3.20 \pm 0.64 | 1,00 | - | 4.36 \pm 0.65 | 0,61 |
| | F2MS | 3.42 \pm 0.72 | 1,00 | - | 4.30 \pm 0.85 | 0,63 |
| | F2MS-A | 3.52 \pm 0.68 | 1,00 | - | 4.58 \pm 0.67 | 0,41 |
| | F2MS-B | 3.23 \pm 0.61 | 1,00 | - | 3.80 \pm 1.01 | 0,74 |
| | F2MS-C | 3.48 \pm 0.87 | 1,00 | - | 4.24 \pm 0.83 | 0,61 |
| | F3J | 3.60 \pm 0.80 | 0,08 | - | - | - |
| | F3MS | 3.31 \pm 0.78 | 0,46 | - | - | - |
| | F3MS-A | 3.30 \pm 0.77 | 0,44 | - | - | - |
| | F3MS-B | 3.08 \pm 0.73 | 0,34 | - | - | - |
| | F3MS-C | 3.18 \pm 0.78 | 0,47 | - | - | - |
| Madur | F2J | 135.7 \pm 4.9 | 1,00 | - | 136.6 \pm 5.7 | 0,87 |
| | F2MS | 134.3 \pm 3.9 | 1,00 | - | 131.3 \pm 5.4 | 1,00 |
| | F2MS-A | 134.8 \pm 3.9 | 1,00 | - | 131.8 \pm 5.9 | 1,00 |
| | F2MS-B | 132.8 \pm 2.8 | 1,00 | - | 130.1 \pm 4.8 | 1,00 |
| | F2MS-C | 135.1 \pm 4.6 | 1,00 | - | 131.4 \pm 5.3 | 1,00 |
| | F3J | 138.8 \pm 5.9 | 0,97 | - | - | - |
| | F3MS | 132.8 \pm 4.6 | 0,97 | - | - | - |
| | F3MS-A | 133.3 \pm 4.1 | 0,97 | - | - | - |
| | F3MS-B | 130.7 \pm 4.2 | 0,97 | - | - | - |
| | F3MS-C | 131.8 \pm 5.2 | 0,98 | - | - | - |

| Carácter | Población | Campo | | | Balsetas | |
|--------------|-----------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | | media \pm SD | H ² | h ² | media \pm SD | H ² |
| L | F2J | 6.25 \pm 0.31 | 0,96 | - | 6.32 \pm 0.32 | 0,97 |
| | F2MS | 6.56 \pm 0.21 | 0,75 | - | 6.53 \pm 0.28 | 0,94 |
| | F2MS-A | 6.60 \pm 0.19 | 0,68 | - | 6.59 \pm 0.27 | 0,93 |
| | F2MS-B | 6.50 \pm 0.21 | 0,74 | - | 6.35 \pm 0.21 | 0,90 |
| | F2MS-C | 6.58 \pm 0.25 | 0,82 | - | 6.57 \pm 0.31 | 0,95 |
| A | F2J | 3.34 \pm 0.09 | 0,77 | - | 3.36 \pm 0.10 | 0,88 |
| | F2MS | 3.35 \pm 0.14 | 0,72 | - | 3.30 \pm 0.11 | 0,62 |
| | F2MS-A | 3.28 \pm 0.17 | 0,81 | - | 3.29 \pm 0.14 | 0,75 |
| | F2MS-B | 3.40 \pm 0.08 | 0,14 | - | 3.29 \pm 0.08 | 0,22 |
| | F2MS-C | 3.38 \pm 0.10 | 0,48 | - | 3.33 \pm 0.08 | 0,37 |
| L/A | F2J | 1.88 \pm 0.10 | 0,93 | - | 1.88 \pm 0.09 | 0,90 |
| | F2MS | 1.97 \pm 0.10 | 0,94 | - | 1.98 \pm 0.09 | 0,88 |
| | F2MS-A | 2.02 \pm 0.12 | 0,95 | - | 2.00 \pm 0.09 | 0,88 |
| | F2MS-B | 1.91 \pm 0.07 | 0,87 | - | 1.93 \pm 0.08 | 0,84 |
| | F2MS-C | 1.95 \pm 0.08 | 0,89 | - | 1.97 \pm 0.10 | 0,88 |
| PerIT | F2J | 55.1 \pm 19.3 | 0,69 | - | 60.9 \pm 16.3 | 0,36 |
| | F2MS | 69.3 \pm 16.0 | 0,53 | - | 65.8 \pm 15.7 | 0,90 |
| | F2MS-A | 67.5 \pm 16.9 | 0,58 | - | 69.2 \pm 15.8 | 0,91 |
| | F2MS-B | 72.5 \pm 14.6 | 0,43 | - | 58.8 \pm 11.9 | 0,83 |
| | F2MS-C | 68.5 \pm 16.2 | 0,54 | - | 65.4 \pm 17.0 | 0,92 |
| Tmp | F2J | 1.78 \pm 0.46 | 0,43 | - | 2.21 \pm 0.37 | 0,91 |
| | F2MS | 1.93 \pm 0.40 | 0,56 | - | 1.75 \pm 0.41 | 0,93 |
| | F2MS-A | 1.84 \pm 0.42 | 0,60 | - | 1.75 \pm 0.45 | 0,94 |
| | F2MS-B | 1.97 \pm 0.36 | 0,48 | - | 1.65 \pm 0.29 | 0,85 |
| | F2MS-C | 2.01 \pm 0.40 | 0,57 | - | 1.81 \pm 0.43 | 0,93 |

En general, los valores de H² son mayores en balsetas que en campo. El ANOVA, como veremos en el punto siguiente, revela que la variación ambiental en balsetas es menor; es decir, se trata de un ambiente más homogéneo que las parcelas del campo, lo cual podría explicar la mayor contribución relativa del componente genético en balsetas. Cabe destacar que los caracteres con mayores valores de H² son los relacionados con la longitud (altura, longitud del tallo y longitud de panícula) y con las dimensiones y el peso de los granos (peso de la panícula y peso de 100 granos); también destaca la resistencia al doblado, la maduración, el porte, y el perlado. Otros, como el número de panículas y el peso total, tienen valores de heredabilidad bajos, o incluso despreciables. Por otra parte, en general, los valores de H² son mayores en la generación F3 que en F2 (excepto en la altura, la longitud del tallo, el peso medio de la panícula y el porte).

Sin embargo, los bajos de valores de h^2 muestran que en la mayoría de los caracteres en que se ha podido estimar este parámetro, la varianza aditiva tiene poco o ningún peso en la determinación del carácter: sólo en la longitud de la panícula (y en menor medida en la altura y la longitud del tallo, y también el peso de las panículas en F3J) el componente aditivo es considerable.

4.2.4. Análisis de la varianza

La disponibilidad de variabilidad genética es un requisito a la hora de iniciar cualquier programa de mejora. Un análisis de varianza de los caracteres estudiados nos aporta información la variación. Pero la existencia de variación puede ser debida tanto a efectos ambientales como genéticos; por tanto, antes de comparar la variación entre las poblaciones es necesario conocer si los ambientes en los que se encuentran estas poblaciones son similares. La tabla 10 muestra los resultados de los ANOVAs del testigo Senia, expresadas como diferencias en los intervalos de MDS.

Se observa que las dos balsetas utilizadas para el estudio de las dos poblaciones F2 resultaron ser homogéneas para la mayoría de los caracteres estudiados excepto la longitud de la hoja bandera, la fecha de maduración y las características del grano. Sin embargo, en las parcelas de campo en las que se cultivaron las poblaciones F2 se hallaron bastantes diferencias significativas: sólo resultaron ambientes comparables para el número de panículas, el peso total, el peso de 100 granos, la longitud del grano, el porcentaje del perlado y el porte. Al año siguiente, las líneas F3 se cultivaron en dos parcelas adyacentes, pero diferentes de las que se utilizaron las F2 el año anterior. Por esta razón y por las diferentes condiciones entre años, los ambientes en años distintos no fueron comparables a efectos genéticos. Los resultados de los análisis de varianza de los testigos en F3 demuestran que estas dos parcelas son mucho más homogéneas e idéneas para la comparación de caracteres entre las poblaciones que los utilizados en F2, ya que sólo se encontraron diferencias significativas en el porte de Senia.

Tabla 10. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre los testigos Senia en los ambientes ensayados en las generaciones F2 (2004) y F3 (2005); las cruces al mismo nivel indican homogeneidad entre los ambientes. J y MS indican las parcelas y balsetas en las que se ensayaron las poblaciones F2J y F2MS, respectivamente, y las correspondientes F3. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

| Carácter | 2004 | | | | 2005 | |
|----------|-------|----|----------|----|-------|----|
| | campo | | balsetas | | campo | |
| | J | MS | J | MS | J | MS |
| Alt | X | | X | X | X | X |
| Ltallo | X | X | X | X | X | X |
| LpanM | X | X | X | X | X | X |
| LhojaM | X | X | X | X | | |
| EntrnM | | | | | X | X |
| NpanT | X | X | X | X | X | X |
| Pestot | X | X | X | X | X | X |
| Pespan | X | X | X | X | X | X |
| P100 | X | X | X | X | | |
| DiamAM | X | X | X | X | | |
| DiamT | | | | | X | X |
| DoblT | | | | | X | X |
| Porte | X | X | X | X | X | X |
| Madur | X | X | X | X | X | X |
| L | X | X | X | X | | |
| A | X | X | X | X | | |
| L/A | X | X | X | X | | |
| PerIT | X | X | X | X | | |
| TMp | X | X | X | X | | |

Una vez analizada la influencia del ambiente en los caracteres en lo que respecta a los testigos, se realizaron los ANOVAs de las poblaciones F2 y F3. En la tabla 11 se observa la comparación entre poblaciones y subfamilias F2 en cada uno de los ambientes estudiados, campo y balsetas. Los caracteres que aparecen sombreados en la tabla son aquellos en los que los ambientes resultaron no homogéneos al analizar los controles y, por tanto, las diferencias encontradas en F2 pueden deberse, al menos en parte, al efecto ambiental. Para el resto de los caracteres, las diferencias encontradas entre las poblaciones y subfamilias podrían ser achacadas a las diferencias genéticas y a la interacción genotipo x ambiente (GxE).

Por otra parte, la tabla 12 muestra la comparación del comportamiento de cada población entre los dos ambientes estudiados. Tanto en las poblaciones F2J y F2MS, como en las subfamilias de MS, se encontraron diferencias significativas entre los ambientes en gran parte de los caracteres estudiados. Esto ya ocurría en la mayoría de los casos al comparar las plantas testigo entre los ambientes. Sin embargo, destacan algunos casos en que estas diferencias no se mantienen:

- en el DiamA de todas las poblaciones y en los caracteres de grano de la subfamilia B, encontramos diferencias significativas entre ambientes que no se manifiestan en los testigos. En estos casos, las diferencias podrían ser achacables a un comportamiento distinto de los genotipos según el ambiente en que se encuentran.
- Por el contrario, en algunos caracteres relacionados con la longitud (Lpan en todas las poblaciones excepto F2MS-B, Alt y Ltallo en F2MS-B, y Lhoja en F2MS-A y F2MS-B), las diferencias encontradas al comparar los testigos entre los ambientes no se detectan en las poblaciones analizadas. Esto parece indicar que en tales casos, el ambiente afectó más a Senia que a los genotipos estudiados.

| Fuente de variación | | gl | Cuadrados medios | | | | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------|-----------|-----------|----------|-------------|------------|---------|
| | | | Alt | Ltallo | Lpan | Lhoja | NpanT | Pestot | Pespan | P100 |
| CAMPO | población | 1 | 899.01*** | 1458.58*** | 336.85*** | 398.40*** | 1.06*** | 31440.40*** | 1.51 | 1.49*** |
| | planta(población) | 147 | 71.15 | 49.57 | 21.85*** | 44.48*** | 0.02 | 313.74 | 0.51 | 0.08 |
| | tallos(planta) | 596 | | | 2.51 | 13.5 | | | | |
| | R^2 | | 0.08 | 0.17 | 0.70 | 0.53 | 0.30 | 0.41 | 0.02 | 0.12 |
| | CV(%) | | 9.69 | 10.14 | 9.02 | 16.97 | 11.01 | 26.98 | 16.63 | 7.44 |
| BALSETAS | población | 1 | 1165.99*** | 638.41*** | 208.56** | 360.25* | 0.00 | 95.77 | 1.84* | 0.24 |
| | planta(población) | 140 | 57.67 | 34.49 | 28.25*** | 61.47*** | 0.01 | 39.71 | 0.45 | 0.16 |
| | tallos(planta) | 532 | | | 1.85 | 11.13 | | | | |
| | R^2 | | 0.13 | 0.12 | 0.81 | 0.66 | 0.00 | 0.02 | 0.03 | 0.01 |
| | CV(%) | | 8.69 | 8.36 | 7.97 | 14.43 | 16.83 | 32.65 | 19.09 | 11.12 |
| SUBFAMILIAS | población | 2 | 98.73 | 9.36 | 270.29*** | 339.38*** | 0.03 | 99.65 | 1.39 | 0.10 |
| | F2MS | planta(población) | 71 | 77.20 | 52.18 | 24.50*** | 47.35*** | 0.01 | 139.22 | 0.57 |
| CAMPO | tallos(planta) | 296 | | | 2.83 | 15.40 | | | | |
| | R^2 | | 0.03 | 0.01 | 0.73 | 0.54 | 0.05 | 0.02 | 0.06 | 0.04 |
| | CV(%) | | 10.39 | 10.90 | 9.21 | 17.47 | 10.50 | 23.12 | 17.96 | 6.81 |
| SUBFAMILIAS | población | 2 | 128.20 | 24.70 | 251.09*** | 259.29** | 0.01 | 41.45 | 3.55*** | 1.01** |
| | F2MS | planta(población) | 64 | 49.99 | 32.00 | 25.15*** | 51.29*** | 0.01 | 33.07 | 0.45 |
| BALSETAS | tallos(planta) | 247 | | | 2.20 | 11.24 | | | | |
| | R^2 | | 0.08 | 0.03 | 0.8 | 0.64 | 0.02 | 0.04 | 0.20 | 0.18 |
| | CV(%) | | 7.79 | 7.78 | 8.36 | 13.97 | 15.72 | 31.21 | 19.64 | 10.88 |
| | | | DiamA | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | Tmp |
| CAMPO | población | 1 | 0.88 | 1.79 | 74.01 | 3.49*** | 0.00 | 0.29*** | 7452.33*** | 0.79* |
| | planta(población) | 147 | 2.35*** | 0.46 | 19.82 | 0.07 | 0.01 | 0.01 | 313.99 | 0.18 |
| | tallos(planta) | 596 | 0.57 | | | | | | | |
| | R^2 | | 0.51 | 0.03 | 0.02 | 0.25 | 0.001 | 0.17 | 0.14 | 0.03 |
| | CV(%) | | 14.89 | 20.56 | 3.30 | 4.19 | 3.45 | 5.23 | 28.51 | 23.11 |
| BALSETAS | población | 1 | 2.48 | 0.13 | 984.61*** | 1.56*** | 0.12** | 0.34*** | 822.92 | 7.26*** |
| | planta(población) | 140 | 1.37*** | 0.57 | 31.00 | 0.09 | 0.01 | 0.01 | 257.16 | 0.15 |
| | tallos(planta) | 532 | 0.60 | | | | | | | |
| | R^2 | | 0.39 | 0.002 | 0.18 | 0.11 | 0.07 | 0.22 | 0.02 | 0.26 |
| | CV(%) | | 19.81 | 17.38 | 4.15 | 4.74 | 3.14 | 4.90 | 25.40 | 19.46 |
| SUBFAMILIAS | población | 2 | 9.57** | 0.58 | 36.59 | 0.07 | 0.10** | 0.07*** | 165.89 | 0.21 |
| | F2MS | planta(población) | 71 | 1.89*** | 0.52 | 14.81 | 0.05 | 0.02 | 0.01 | 257.13 |
| CAMPO | tallos(planta) | 296 | 0.58 | | | | | | | |
| | R^2 | | 0.49 | 0.03 | 0.07 | 0.05 | 0.15 | 0.19 | 0.02 | 0.04 |
| | CV(%) | | 14.88 | 21.07 | 2.87 | 3.24 | 3.90 | 4.88 | 23.15 | 20.59 |
| SUBFAMILIAS | población | 2 | 1.67 | 3.14* | 15.98 | 0.31* | 0.01 | 0.03 | 517.34 | 0.11 |
| | F2MS | planta(población) | 64 | 1.29*** | 0.65 | 29.78 | 0.07 | 0.01 | 0.01 | 239.01 |
| BALSETAS | tallos(planta) | 247 | 0.65 | | | | | | | |
| | R^2 | | 0.35 | 0.13 | 0.02 | 0.12 | 0.03 | 0.09 | 0.07 | 0.02 |
| | CV(%) | | 20.81 | 18.79 | 4.16 | 4.17 | 3.35 | 4.65 | 23.50 | 23.69 |

Tabla 11. Cuadrados medios del Análisis de Varianza en F2. Muestran las comparaciones entre las poblaciones J y MS, y entre las subfamilias del cruzamiento MS en cada ambiente. * = significativo con $p(\alpha) \leq 0.05$, ** = significativo con $p(\alpha) \leq 0.01$, *** = significativo con $p(\alpha) \leq 0.001$. Se han sombreado los caracteres en los que hay diferencias significativas entre los testigos situados entre cada población. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7

| Fuente de variación | | | Cuadrados medios | | | | | | | |
|---------------------|----------------|-----|------------------|------------|-----------|----------|----------|---------------|-----------|---------|
| | | | Alt | Ltallo | Lpan | Lhoja | NpanT | Pestot | Pespan | P100 |
| F2J | loc | 1 | 816.67*** | 666.85*** | 24.27 | 352.20** | 10.27*** | 1338003.00*** | 18.07*** | 0.05 |
| | planta(loc) | 148 | 63.09 | 42.39 | 18.64*** | 49.36*** | 0.02 | 268.52 | 0.53 | 0.11 |
| | tallo(planta) | 585 | | | 1.88 | 11.33 | | | | |
| | R ² | | 0.08 | 0.10 | 0.72 | 0.60 | 0.79 | 0.77 | 0.26 | 0.03 |
| | CV(%) | | 9.12 | 9.24 | 8.22 | 15.59 | 13.64 | 32.54 | 15.79 | 9.32 |
| F2MS | loc | 1 | 1257.10*** | 1360.45*** | 56.01 | 324.99* | 4.52*** | 37081.50*** | 21.27*** | 3.60*** |
| | planta(loc) | 139 | 66.67 | 42.48 | 31.72*** | 56.39*** | 0.01 | 88.77 | 0.57 | 0.12 |
| | tallo(planta) | 542 | | | 2.54 | 13.46 | | | | |
| | R ² | | 0.13 | 0.2 | 0.76 | 0.59 | 0.71 | 0.75 | 0.21 | 0.18 |
| | CV(%) | | 9.35 | 9.43 | 8.85 | 15.83 | 12.53 | 26.42 | 19.72 | 9.35 |
| F2MS-A | loc | 1 | 518.70* | 602.90*** | 50.49 | 20.74 | 2.04*** | 16000.30*** | 6.65*** | 0.66* |
| | planta(loc) | 60 | 69.37 | 46.25 | 31.59*** | 50.83*** | 0.01 | 71.88 | 0.55 | 0.11 |
| | tallo(planta) | 237 | | | 2.44 | 13.89 | | | | |
| | R ² | | 0.02 | 0.19 | 0.77 | 0.55 | 0.78 | 0.79 | 0.17 | 0.09 |
| | CV(%) | | 9.33 | 9.75 | 8.09 | 15.25 | 11.03 | 24.02 | 18.42 | 8.91 |
| F2MS-B | loc | 1 | 79.36 | 160.46 | 115.57** | 15.24 | 1.24*** | 11858.60*** | 9.56*** | 3.31*** |
| | planta(loc) | 35 | 66.09 | 48.33 | 13.96** | 50.17*** | 0.01 | 117.78 | 0.32 | 0.07 |
| | tallo(planta) | 145 | | | 2.94 | 14.48 | | | | |
| | R ² | | 0.04 | 0.09 | 0.59 | 0.53 | 0.71 | 0.74 | 0.46 | 0.59 |
| | CV(%) | | 9.59 | 10.23 | 10.32 | 18.13 | 12.51 | 28.50 | 16.40 | 7.2 |
| F2MS-C | loc | 1 | 650.47** | 594.68*** | 2.28 | 361.08** | 1.13*** | 9169.82*** | 8.00*** | 0.93* |
| | planta(loc) | 40 | 58.20 | 34.58 | 24.12*** | 45.97*** | 0.02 | 90.59 | 0.62 | 0.14 |
| | tallo(planta) | 160 | | | 2.33 | 11.89 | | | | |
| | R ² | | 0.23 | 0.31 | 0.72 | 0.61 | 0.17 | 0.72 | 0.25 | 0.15 |
| | CV(%) | | 8.81 | 8.50 | 8.80 | 14.83 | 13.73 | 27.97 | 20.54 | 9.79 |
| | | | DiamA | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | Tmp |
| F2J | loc | 1 | 197.49*** | 50.46*** | 29.04 | 0.17 | 0.04 | 0 | 1243.18 | 6.75*** |
| | planta(loc) | 148 | 2.03*** | 0.41 | 28.313 | 0.10 | 0.01 | 0.01 | 318.82 | 0.17 |
| | tallo(planta) | 585 | 0.56 | | | | | | | |
| | R ² | | 0.62 | 0.45 | 0.01 | 0.01 | 0.02 | 0 | 0.03 | 0.21 |
| | CV(%) | | 16.57 | 17.02 | 3.91 | 5.02 | 2.76 | 5.05 | 30.78 | 20.76 |
| F2MS | loc | 1 | 245.47*** | 27.20*** | 313.37*** | 0.05 | 0.06 | 0.01 | 421.68 | 1.15** |
| | planta(loc) | 139 | 1.71*** | 0.62 | 22.04 | 0.06 | 0.02 | 0.01 | 251.49 | 0.16 |
| | tallo(planta) | 542 | 0.61 | | | | | | | |
| | R ² | | 0.61 | 0.24 | 0.09 | 0.01 | 0.03 | 0.004 | 0.01 | 0.05 |
| | CV(%) | | 17.25 | 20.51 | 3.53 | 3.83 | 3.8 | 5.08 | 23.44 | 21.95 |
| F2MS-A | loc | 1 | 131.85*** | 17.56*** | 133.57* | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 44.56 | 0.14 |
| | planta(loc) | 60 | 1.79*** | 0.45 | 24.83 | 0.05 | 0.02 | 0.01 | 267.72 | 0.19 |
| | tallo(planta) | 237 | 0.61 | | | | | | | |
| | R ² | | 0.65 | 0.39 | 0.08 | 0.001 | 0.001 | 0.004 | 0.003 | 0.01 |
| | CV(%) | | 16.64 | 16.66 | 3.74 | 3.54 | 4.66 | 5.33 | 23.93 | 24.15 |
| F2MS-B | loc | 1 | 119.35*** | 2.93* | 65.31* | 0.19* | 0.11*** | 0.00 | 1590.11** | 0.88** |
| | planta(loc) | 35 | 1.42*** | 0.64 | 13.79 | 0.04 | 0.01 | 0.01 | 185.07 | 0.11 |
| | tallo(planta) | 145 | 0.61 | | | | | | | |
| | R ² | | 0.56 | 0.12 | 0.12 | 0.11 | 0.34 | 0.02 | 0.20 | 0.19 |
| | CV(%) | | 17.74 | 23.04 | 2.82 | 3.25 | 2.35 | 3.92 | 20.25 | 18.26 |
| F2MS-C | loc | 1 | 62.03*** | 6.10** | 148.60* | 0.00 | 0.02 | 0.01 | 97.57 | 0.41 |
| | planta(loc) | 40 | 1.81*** | 0.73 | 24.64 | 0.08 | 0.01 | 0.01 | 275.59 | 0.17 |
| | tallo(planta) | 160 | 0.52 | | | | | | | |
| | R ² | | 0.62 | 0.17 | 0.13 | 0.001 | 0.06 | 0.17 | 0.01 | 0.06 |
| | CV(%) | | 16.6 | 22.09 | 3.72 | 4.33 | 2.81 | 4.46 | 24.77 | 21.61 |

Tabla 12. Cuadrados medios del Análisis de Varianza en F2. Muestran las comparaciones entre ambientes (campo y basetas) en las poblaciones J y MS y, en las subfamilias del cruzamiento MS. * = significativo $p(\alpha) \leq 0.05$, ** = significativo $p(\alpha) \leq 0.01$, *** = significativo $p(\alpha) \leq 0.001$. Se han sombreado los caracteres en los que hay diferencias significativas entre los ambientes para el testigo. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

En aquellos caracteres en que se encuentran diferencias ambientales significativas tanto en los controles como dentro de las poblaciones, es difícil

determinar qué parte de estas diferencias es debida a la interacción GxE. Además, en algunos caracteres como altura, longitud del tallo, maduración, peso, dimensiones y perlado del grano se observan valores de R^2 muy bajos tanto en el ANOVA de los genotipos como en el de ambientes; es decir, se puede deducir que GxE debe ser un factor importante, porque nuestro modelo deja por explicar gran parte de la variación. En otros caracteres, como el número de panículas, el peso total, el peso de la panícula, el diámetro y el porte, el ANOVA entre ambientes explica mejor la variación que el ANOVA entre genotipos. Finalmente, la longitud de la hoja bandera y de la panícula son caracteres cuya variación está determinada en gran medida tanto por el factor “población” como por el factor “ambiente”.

Por otro lado, el ANOVA sólo nos indica cuándo hay diferencias significativas entre las subfamilias de F2MS, pero no cuáles son esas diferencias concretas; para analizar mejor esas diferencias se compararon las medias de los caracteres que mostraron diferencias significativas, mediante los correspondientes intervalos de MDS (Tabla 13).

| | CAMPO | | | BALSETAS | | |
|--------|-------|---|---|----------|---|---|
| | A | B | C | A | B | C |
| LpanM | X | | | X | | |
| | | X | X | | X | X |
| LhojaM | X | | | X | | X |
| | | X | X | | X | |
| Pespan | | | | X | | X |
| | | | | | X | |
| P100 | | | | X | | X |
| | | | | | X | |
| DiamAM | X | | | | | |
| | | X | X | | | |
| Porte | | | | X | | X |
| | | | | | X | X |
| L | | | | X | | X |
| | | | | | X | |
| A | | X | X | | | |
| | X | | | | | |
| L/A | X | | | | | |
| | | X | X | | | |

Tabla 13. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre las subfamilias F2 (A, B y C) del cruzamiento MS que mostraron diferencias significativas en el ANOVA. Las cruces al mismo nivel indican que no existen diferencias significativas en el carácter. Se han sombreado los caracteres en los que se encontraron diferencias significativas en los controles entre ambos ambientes. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

Cuando se compararon los testigos entre la parcela de campo y la balseta en que se analizó la población F2MS, ya se observaron diferencias claras en algunos caracteres. Parece que las plantas desarrolladas en campo fueron menos altas y ahijaron más, siendo más productivas y de porte más compacto que las desarrolladas en la balseta. Las plantas de la subfamilia B se alargaron menos y tuvieron panículas menos pesadas, granos también menos pesados, más cortos y menos perlados, que las otras dos subfamilias, especialmente en las balsetas. Por el contrario, la subfamilia A destaca en los dos ambientes, con plantas más altas y panículas más largas y pesadas; en campo mostró mayor diámetro del tallo y granos más estrechos. En general, se aprecia una mayor similitud entre el comportamiento agronómico de las subfamilias A y C que entre cualquiera de ellas y F2MS-B.

La tabla 14 muestra las comparaciones entre las poblaciones F3 J y MS, y entre las subfamilias del cruzamiento MS en la generación F3. Estos ANOVAs, además de las diferencias entre poblaciones, informan de las diferencias entre líneas dentro de cada población. Ya que las parcelas en las que se sembraron las líneas F3 de ambas poblaciones eran altamente comparables, las diferencias encontradas entre las poblaciones J y MS en los caracteres evaluados en F3 pueden achacarse, principalmente, a las diferencias genéticas y al componente GxE. Esto se ve reflejado también en los valores de R^2 , que son más altos en general que los obtenidos en los ANOVAS de F2; es decir, el modelo propuesto en las F3, que no incluye la variación ambiental como factor sino como residuo, explica altamente la variabilidad encontrada.

Los dos cruzamientos, J y MS, no difieren significativamente en la altura, la longitud del tallo y los parámetros de producción (número de panículas, peso total y peso medio de la panícula). En todos los caracteres, las diferencias entre las líneas dentro de un mismo cruzamiento fueron tanto o más importantes que las diferencias entre cruzamientos, siendo siempre altamente significativas.

Respecto a las diferencias entre subfamilias de F3MS, para analizarlas en más detalle se calcularon los intervalos de MDS (Tabla 15). Tal como se observó en la generación F2, las plantas de la subfamilia A tienen las panículas más largas de las tres subfamilias y más pesadas que las de la subfamilia B; esto coincide con la alta H^2 observada en estos caracteres.

| Fuente de variación | | gl. | Cuadrados medios | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| | | | Alt | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot |
| F3J respecto a F3MS | cruce | 1 | 38.52 | 549.13 | 1569.89*** | 1679.87*** | 0 | 30.26 |
| | línea(cruce) | 286 | 344.75*** | 234.99*** | 133.75*** | 35.31*** | 0.04*** | 671.77*** |
| | planta(línea*cruce) | 1439 | 27.83 | 20.77 | 11.15*** | 3.81*** | 0.02 | 279.24 |
| | tallo(planta) | 6888 | | | 1.91 | 2.05 | | |
| | R^2 | | 0.71 | 0.69 | 0.81 | 0.83 | 0.31 | 0.32 |
| | CV(%) | | 6.07 | 6.59 | 7.75 | 11.67 | 12.35 | 31.07 |
| subfamilias de F3MS | subfamilia | 2 | 544.55 | 106.51 | 3018.20*** | 117.72 | 0.25** | 6967.36*** |
| | línea(subfamilia) | 136 | 342.58*** | 244.65*** | 117.15*** | 40.43*** | 0.05*** | 808.00*** |
| | planta(línea*subfamilia) | 694 | 28.47 | 20.71 | 12.40*** | 3.05*** | 0.02 | 276.91 |
| | tallo(planta) | 3322 | | | 2.09 | 1.64 | | |
| | R^2 | | 0.71 | 0.70 | 0.81 | 0.85 | 0.37 | 0.39 |
| | CV(%) | | 6.15 | 6.64 | 7.91 | 11.11 | 12.42 | 31.01 |
| | | | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Madur | |
| F3J respecto a F3MS | cruce | 1 | 1.89 | 2.14*** | 2.01*** | 6.07** | 2619.26*** | |
| | línea(cruce) | 286 | 1.91*** | 0.10*** | 0.04*** | 0.63*** | 28.38*** | |
| | planta(línea*cruce) | 1439 | 0.36 | 0.02 | 0.02 | | | |
| | tallo(planta) | 6888 | | | | | | |
| | R^2 | | 0.51 | 0.48 | 0.32 | | | |
| | CV(%) | | 13.67 | 11.20 | 26.97 | | | |
| subfamilias de F3MS | subfamilia | 2 | 26.62*** | 0.66*** | 0.01 | 1.92* | 114.20** | |
| | línea(subfamilia) | 136 | 1.62*** | 0.08*** | 0.04*** | 0.59*** | 20.17*** | |
| | planta(línea*subfamilia) | 694 | 0.42 | 0.01 | 0.02 | | | |
| | tallo(planta) | 3322 | | | | | | |
| | R^2 | | 0.48 | 0.59 | 0.27 | | | |
| | CV(%) | | 14.92 | 8.32 | 29.86 | | | |

Tabla 14. Cuadrados medios del Análisis de Varianza en F3. Muestran las diferencias entre las poblaciones J y MS y entre las subfamilias del cruce MS. * = significativo con $p(\alpha) \leq 0.05$, ** = significativo con $p(\alpha) \leq 0.01$, *** = significativo con $p(\alpha) \leq 0.001$. Se ha sombreado el porte porque presentó diferencias significativas entre los testigos. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

| | A | B | C |
|---------------|---|---|---|
| LpanM | X | | X |
| NpanT | | X | X |
| Pestot | X | X | X |
| Pespan | X | | X |
| DiamT | | X | X |
| Porte | X | X | X |
| Madur | X | | X |

Tabla 15. Prueba de MDS con un 95% de confianza entre las subfamilias F3 (A, B y C) del cruzamiento MS que mostraron diferencias significativas en el ANOVA. Las cruces al mismo nivel indican que no existen diferencias significativas entre las subfamilias. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

4.2.5. *Correlación entre caracteres*

En la tabla 16 se muestran las correlaciones entre los caracteres estudiados en F2, tanto en las dos poblaciones y en las subfamilias del cruzamiento MS, como en los dos ambientes analizados. En la siguiente generación las correlaciones se calcularon con los valores medios de cada línea; estos resultados se muestran en la tabla 17.

Todos los caracteres de longitud estudiados están positivamente correlacionados entre ellos; en F2, estas correlaciones son altamente significativas en ambas poblaciones (J y MS) y en los dos ambientes. En las subfamilias las correlaciones también son positivas, pero en la subfamilia B, en ambos ambientes, la correlación es menor entre algunos caracteres; esto puede ser debido al menor tamaño muestral en esta subfamilia. En F3, las correlaciones se mantienen altamente significativas en las dos poblaciones y en las subfamilias de MS. Sólo en las subfamilias B y C no es significativa la correlación entre la longitud de panícula y el entrenado, aunque siguen la misma tendencia.

Respecto al resto de caracteres, la altura y la longitud del tallo están positivamente correlacionados en la mayoría de los casos con los caracteres de producción en cuanto al peso: peso total, peso de la panícula y, sobre todo, peso de 100 granos (con la excepción de F2MS-A). Sin embargo, apenas se han encontrado correlación entre el número de panículas y los caracteres de longitud. En F2J, F2MS y F2MS-C, las correlaciones entre los caracteres de elongación y el peso total y de la panícula son claramente menores en campo que en balsetas (salvo con el peso total en F2J). Las panículas más largas son también más pesadas, pero no sólo por tener más granos, sino por tener granos de mayor peso (al parecer, más largos). Estas correlaciones longitud-producción son menores (y algunas negativas) en F3. Esto podría estar relacionado con las menores correlaciones que se dan en las F2 de campo en algunas poblaciones. Cabe destacar la existencia de cierta correlación en F3 entre el número de panículas y los caracteres de elongación: en unos casos, con la longitud de panícula negativamente, mientras que en la subfamilia C, las plantas más altas (con los tallos más largos) son las que tienen mayor número de hijuelos. Por otra parte, también las plantas más altas tienen tallos más gruesos en F2J, F2MS (en su conjunto), F2MS-A y F2MS-B en campo, y F2MS-C en balsetas. Cabe destacar

que en F2MS-A, esta correlación se debe principalmente a plantas con panículas más largas (no a tallos largos). En F3, esta correlación se mantiene en el conjunto de la población MS y en las subfamilias A y B (el signo negativo se debe a que en F3 el diámetro está transformado con la función inversa, es decir, que de nuevo las plantas con longitud de panícula mayor tienen tallos más gruesos). Las correlaciones del diámetro con la longitud del segundo entrenudo en las dos poblaciones y las dos subfamilias F3MS-A y F3MS-C indican que los tallos más largos coinciden con los menos gruesos.

Por otro lado, en algunos casos se detecta también correlación entre parámetros de longitud y maduración, y ésta siempre es negativa; es decir, las plantas más altas son más tempranas, principalmente en F2 en balsetas, y en todas las poblaciones F3. También se observa correlación positiva entre la elongación de los tallos (y, sobre todo, de las panículas), y la longitud del grano: en las dos poblaciones F2, las panículas más largas corresponden a granos más largos (y con mayor relación L/A), aunque entre las subfamilias esto sólo se manifiesta claramente en F2MS-C, y sólo afecta al parámetro L. También en algunos casos, al analizar las subfamilias, esto va acompañado de un mayor tamaño de la perla. Finalmente, las plantas más altas presentan portes más abiertos en F2MS-A y C, principalmente en campo; mientras que en F2J (aunque no significativamente) las plantas más altas tienden a ser más cerradas (también en F2MS-B en balsetas). En F3, estas correlaciones son menos evidentes.

Respecto a los caracteres de producción, como era esperable, tanto en F2 como en F3 el número de panículas está positivamente correlacionado con el peso total y negativamente con el peso medio de las panículas; aunque no en todos los casos estas correlaciones son significativas, sí siguen la misma tendencia. Si bien el peso total es una combinación del número de panículas y su peso medio, al observar las correlaciones (tanto en F2 como en F3) el número de hijuelos parece ser el principal componente del rendimiento global, pues las correlaciones con el peso medio de las panículas son siempre menores, e incluso no significativas en algunos casos.

Por otra parte, la correlación entre el peso medio de las panículas y el peso de cien granos (P100) no siempre es significativa (aunque, naturalmente, siempre sigue una tendencia positiva, y suele ser mayor en balsetas que en

campo); esto indica que para determinar el peso de las panículas, el número de granos es un componente tanto o más importante que el peso de éstos. En la población F2J y en las subfamilias F2MS-A, F2MS-B (en campo) y F2MS-C (en balsetas) los tallos más gruesos llevan consigo panículas más pesadas. Esto se mantiene en la generación F3 (recordemos que en F3 el diámetro está transformado con la función inversa). Ocasionalmente, también se encuentra correlación entre el número de panículas y el porte, aunque suele ser negativa en F2, y positiva en F3. Y también existe correlación positiva entre el porte y el peso medio de las panículas en la F2MS y sus subfamilias. Encontramos además algunas correlaciones significativas entre el peso total y el de las panículas con la fecha de maduración, pero en este caso no se mantiene una tendencia clara: parecen ser más importantes en campo que en balsetas, y positivas en F2J y todas las F3, pero negativas en F2MS y sus subfamilias. Esto último es inesperado, pues las plantas que maduran más tarde suelen ahijar más y tener más tiempo para llenar los granos y que las panículas sean más pesadas. Esto podría ser de interés para obtener variedades tempranas sin mermas en la producción, pero hay que hacer notar que esta tendencia no se mantiene en las correspondientes F3.

El peso del grano está, como es de esperar, positivamente correlacionado con sus dimensiones, en unos casos con los granos más largos, y en otros con los más anchos, o con ambos (aunque en F2MS-B las correlaciones son menos significativas). También, en menor medida, el peso del grano está correlacionado con su perlado. En las balsetas, tanto en F2J como en F2MS en su conjunto, los granos más largos también son los más anchos; pero estos caracteres parecen independientes en campo. La relación L/A parece estar más influenciada por el parámetro L que por el A, a juzgar por las correlaciones generalmente más significativas con la longitud. Por otra parte, en general, son los granos más anchos los que tienen mayor superficie perlada, excepto en F2MS-B, donde llega a invertirse la tendencia en balsetas. En esta subfamilia se detecta un comportamiento inesperado en el perlado, pues no existe correlación significativa entre el porcentaje de granos perlados y el tamaño de la perla, mientras que en los otros casos hay una fuerte correlación positiva.

Respecto a los caracteres estructurales relacionados con el encamado (diámetro del tallo, porte y resistencia al doblado), cabe añadir:

- aparte de las mencionadas correlaciones del diámetro con la longitud y la producción, en la población MS en su conjunto (F2 en campo y F3) y en F3MS-A se detecta una correlación positiva del diámetro con el porte.
- El porte, como se ha comentado anteriormente, presenta algunas correlaciones positivas con la elongación (sólo en campo) y con la producción, principalmente con el peso de las panículas; sin embargo, no se encuentra correlacionado con la resistencia al doblado.
- Finalmente, la resistencia al doblado, que sólo se midió en F3, sólo muestra correlación clara con la altura, principalmente en cuanto a la longitud de los tallos (y tiene poco que ver con la distancia entre nudos); también hay cierta correlación con el número de panículas (y el peso total), principalmente en la subfamilia F3MS-C, aunque la tendencia es la misma en toda la población MS (no en la J). Encontramos asimismo correlación negativa con la maduración en la población J y en la subfamilia MS-C (las plantas más tempranas mostraron mayor resistencia al doblado), y una inesperada correlación negativa con el diámetro en F3J (los tallos más gruesos serían los de menor resistencia al doblado).

Tabla 16. Correlaciones fenotípicas entre los caracteres estudiados en las poblaciones F2J y F2MS, y en las subfamilias del cruzamiento MS en los ambientes campo y bassetas. * = significativo $p(\alpha) \leq 0.05$, ** = significativo $p(\alpha) \leq 0.01$, *** = significativo $p(\alpha) \leq 0.001$. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Alt | 0.988 *** | 0.744 *** | 0.716 *** | 0.175 | 0.273 * | 0.193 | 0.354 ** | 0.287 ** | -0.068 | -0.048 | 0.310 ** | 0.067 | 0.268 * | 0.059 | 0.021 |
| Ltallo | | 0.632 *** | 0.692 *** | 0.205 | 0.288 * | 0.144 | 0.305 ** | 0.259 * | -0.084 | -0.037 | 0.272 * | 0.055 | 0.237 * | 0.043 | 0.003 |
| LpanM | | | 0.603 *** | -0.010 | 0.122 | 0.344 ** | 0.457 *** | 0.325 ** | 0.022 | -0.082 | 0.383 *** | 0.100 | 0.321 ** | 0.111 | 0.096 |
| LhojaM | | | | 0.041 | 0.082 | 0.149 | 0.288 * | 0.148 | -0.078 | 0.142 | 0.335 ** | 0.108 | 0.270 * | 0.135 | 0.122 |
| NpanT | | | | | 0.857 *** | -0.447 *** | -0.018 | -0.088 | -0.211 | 0.275 * | -0.079 | 0.022 | -0.085 | -0.199 | -0.259 * |
| Pestot | | | | | | 0.035 | 0.065 | -0.011 | -0.296 * | 0.303 ** | -0.075 | 0.092 | -0.116 | -0.155 | -0.188 |
| Pespan | | | | | | | 0.250 * | 0.241 * | -0.070 | 0.002 | 0.126 | 0.234 | 0.005 | 0.150 | 0.223 |
| P100 | | | | | | | | 0.058 | 0.265 * | -0.122 | 0.685 *** | 0.606 *** | 0.364 ** | 0.387 *** | 0.375 *** |
| DiamAM | | | | | | | | | -0.153 | 0.030 | -0.190 | 0.163 | -0.271 * | -0.122 | -0.062 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.364 ** | 0.311 ** | 0.052 | 0.279 * | 0.103 | 0.044 |
| Madur | | | | | | | | | | | -0.089 | -0.078 | -0.049 | -0.156 | -0.023 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.207 | 0.872 *** | 0.238 * | 0.392 *** |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.298 ** | 0.339 ** | 0.262 * |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | 0.064 | 0.249 * |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.700 *** |

F2J campo

F2J balsetas

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMp |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Alt | 0.981 *** | 0.864 *** | 0.790 *** | -0.062 | 0.202 | 0.463 *** | 0.586 *** | 0.585 *** | -0.108 | -0.316 | 0.412 *** | 0.137 | 0.336 ** | 0.002 | -0.071 |
| Ltallo | | 0.749 *** | 0.724 *** | -0.074 | 0.175 | 0.426 *** | 0.551 *** | 0.575 *** | -0.064 | -0.295 * | 0.362 ** | 0.138 | 0.284 * | -0.022 | -0.092 |
| LpanM | | | 0.814 *** | -0.019 | 0.233 * | 0.471 *** | 0.569 *** | 0.504 *** | -0.200 | -0.312 ** | 0.466 *** | 0.108 | 0.409 *** | 0.064 | -0.001 |
| LhojaM | | | | -0.106 | 0.084 | 0.378 *** | 0.493 *** | 0.529 *** | -0.084 | -0.228 | 0.313 ** | 0.091 | 0.263 * | -0.068 | 0.016 |
| NpanT | | | | | 0.812 *** | -0.144 | 0.131 | -0.007 | -0.307 ** | 0.024 | -0.051 | 0.029 | -0.072 | 0.085 | 0.036 |
| Pestot | | | | | | 0.387 *** | 0.305 ** | 0.363 ** | -0.193 | -0.010 | 0.087 | 0.186 | -0.022 | 0.170 | 0.177 |
| Pespan | | | | | | | 0.313 ** | 0.621 *** | 0.119 | -0.020 | 0.201 | 0.381 *** | -0.016 | 0.224 | 0.331 ** |
| P100 | | | | | | | | 0.396 *** | -0.170 | -0.095 | 0.559 *** | 0.550 *** | 0.242 * | 0.168 | 0.066 |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.051 | -0.151 | 0.059 | 0.109 | -0.005 | 0.136 | 0.050 |
| Porte | | | | | | | | | | 0.043 | -0.215 | 0.021 | -0.224 | 0.001 | 0.124 |
| Madur | | | | | | | | | | | -0.009 | 0.107 | -0.073 | 0.134 | 0.089 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.313 ** | 0.829 *** | 0.169 | 0.007 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.270 * | 0.301 ** | 0.249 * |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | 0.007 | -0.133 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.562 *** |

F2MS campo

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|------------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Alt | 0.973 *** | 0.749 *** | 0.653 *** | -0.143 | 0.177 | 0.442 *** | 0.335 ** | 0.366 ** | 0.416 *** | -0.058 | 0.220 | -0.060 | 0.184 | -0.028 | 0.103 |
| Ltallo | | 0.575 *** | 0.535 *** | -0.108 | 0.178 | 0.391 *** | 0.300 ** | 0.263 | 0.365 ** | -0.040 | 0.157 | -0.029 | 0.118 | -0.037 | 0.112 |
| LpanM | | | 0.777 *** | -0.196 | 0.118 | 0.442 *** | 0.325 ** | 0.538 *** | 0.425 *** | -0.089 | 0.332 ** | -0.133 | 0.314 ** | 0.005 | 0.042 |
| LhojaM | | | | -0.262 * | -0.036 | 0.327 ** | 0.170 | 0.361 ** | 0.319 ** | 0.110 | 0.267 * | -0.221 | 0.339 ** | -0.176 | -0.176 |
| NpanT | | | | | 0.721 *** | -0.423 *** | -0.070 | -0.101 | -0.348 ** | 0.008 | -0.212 | 0.088 | -0.196 | 0.074 | 0.021 |
| Pestot | | | | | | 0.306 ** | 0.100 | 0.255 * | -0.032 | -0.242 * | -0.103 | 0.108 | -0.140 | -0.002 | 0.103 |
| Pespan | | | | | | | 0.228 | 0.461 *** | 0.459 *** | -0.268 * | 0.176 | -0.010 | 0.121 | -0.139 | 0.100 |
| P100 | | | | | | | | 0.276 * | 0.319 ** | 0.014 | 0.469 *** | 0.646 *** | -0.232 | 0.310 ** | 0.477 *** |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.241 * | -0.177 | 0.330 ** | -0.065 | 0.255 * | -0.049 | 0.024 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.096 | 0.213 | 0.150 | 0.015 | -0.001 | 0.221 |
| Madur | | | | | | | | | | | 0.145 | -0.089 | 0.168 | -0.198 | -0.032 |
| L | | | | | | | | | | | | -0.009 | 0.603 *** | 0.024 | 0.122 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.801 *** | 0.362 ** | 0.386 *** |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.278 * | -0.233 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.565 *** |

F2MS balsetas

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| Alt | 0.952 *** | 0.739 *** | 0.774 *** | 0.137 | 0.405 ** | 0.488 *** | 0.436 *** | 0.368 ** | 0.221 | -0.168 | 0.330 * | -0.069 | 0.337 ** | 0.194 | 0.227 |
| Ltallo | | 0.496 *** | 0.607 *** | 0.149 | 0.311 * | 0.295 * | 0.258 * | 0.255 | 0.205 | -0.173 | 0.183 | -0.171 | 0.272 * | 0.127 | 0.097 |
| LpanM | | | 0.868 *** | 0.048 | 0.487 *** | 0.756 *** | 0.674 *** | 0.428 *** | 0.165 | -0.058 | 0.496 *** | 0.195 | 0.314 * | 0.277 * | 0.390 ** |
| LhojaM | | | | 0.079 | 0.467 *** | 0.638 *** | 0.506 *** | 0.362 ** | 0.090 | -0.105 | 0.334 ** | 0.039 | 0.270 * | 0.209 | 0.287 * |
| NpanT | | | | | 0.771 *** | -0.032 | -0.006 | 0.247 * | -0.005 | -0.258 * | -0.035 | -0.080 | 0.018 | -0.147 | -0.099 |
| Pestot | | | | | | 0.581 | 0.303 * | 0.404 *** | 0.190 | -0.193 | 0.169 | 0.029 | 0.125 | 0.141 | 0.137 |
| Pespan | | | | | | | 0.533 *** | 0.392 ** | 0.291 * | -0.025 | 0.330 ** | 0.207 | 0.154 | 0.450 *** | 0.356 ** |
| P100 | | | | | | | | 0.168 | 0.107 | -0.010 | 0.638 *** | 0.622 *** | 0.143 | 0.321 ** | 0.493 *** |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.119 | -0.188 | -0.023 | -0.163 | 0.092 | 0.153 | 0.148 |
| Porte | | | | | | | | | | 0.007 | 0.025 | -0.079 | 0.084 | 0.070 | -0.054 |
| Madur | | | | | | | | | | | 0.034 | 0.075 | -0.018 | 0.000 | 0.148 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.259 * | 0.732 *** | 0.035 | 0.353 ** |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.467 *** | 0.304 * | 0.469 *** |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.187 | -0.019 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.571 *** |

F2MS-A campo

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|----------|---------|-----------|------------|-----------|-----------|
| Alt | 0.976 *** | 0.773 *** | 0.823 *** | -0.100 | 0.357 * | 0.570 *** | 0.204 | 0.402 * | 0.459 ** | 0.021 | 0.236 | -0.087 | 0.182 | -0.150 | 0.000 |
| Ltallo | | 0.617 *** | 0.736 *** | -0.114 | 0.330 | 0.552 ** | 0.137 | 0.322 | 0.405 * | 0.066 | 0.201 | -0.129 | 0.202 | -0.186 | 0.010 |
| LpanM | | | 0.835 *** | -0.031 | 0.333 | 0.454 * | 0.341 | 0.517 ** | 0.481 ** | -0.118 | 0.268 | 0.065 | 0.070 | -0.001 | -0.029 |
| LhojaM | | | | -0.066 | 0.171 | 0.293 | 0.164 | 0.355 | 0.398 * | 0.217 | 0.217 | -0.048 | 0.143 | -0.257 | -0.226 |
| NpanT | | | | | 0.662 *** | -0.411 * | -0.252 | 0.203 | -0.257 | -0.182 | -0.073 | -0.108 | 0.047 | 0.121 | -0.095 |
| Pestot | | | | | | 0.400 * | -0.049 | 0.572 *** | 0.196 | -0.399 * | 0.017 | -0.092 | 0.083 | 0.074 | 0.154 |
| Pespan | | | | | | | 0.245 | 0.409 * | 0.623 *** | -0.244 | 0.090 | 0.012 | 0.040 | -0.071 | 0.310 |
| P100 | | | | | | | | 0.430 * | 0.317 | -0.140 | 0.296 | 0.775 *** | -0.532 ** | 0.558 ** | 0.526 ** |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.137 | -0.129 | 0.378 * | 0.141 | 0.058 | 0.089 | 0.128 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.130 | -0.108 | 0.225 | -0.229 | 0.032 | 0.291 |
| Madur | | | | | | | | | | | 0.148 | -0.084 | 0.148 | -0.520 ** | -0.323 |
| L | | | | | | | | | | | | -0.048 | 0.505 ** | 0.333 | -0.001 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.886 *** | 0.543 ** | 0.515 ** |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.324 | -0.444 * |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.564 *** |

F2MS-A balsetas

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|----------|---------|---------|--------|-----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Alt | 0.945 *** | 0.608 *** | 0.725 *** | 0.019 | 0.147 | 0.234 | -0.024 | 0.209 | 0.354 | 0.000 | -0.200 | -0.281 | 0.061 | 0.039 | 0.033 |
| Ltallo | | 0.315 | 0.509 ** | 0.016 | 0.042 | 0.030 | -0.213 | 0.090 | 0.438 * | 0.051 | -0.339 | -0.405 * | 0.047 | -0.040 | -0.143 |
| LpanM | | | 0.884 *** | -0.053 | 0.290 | 0.615 *** | 0.499 ** | 0.315 | -0.112 | 0.036 | 0.355 | 0.202 | 0.130 | 0.150 | 0.504 ** |
| LhojaM | | | | 0.082 | 0.364 * | 0.505 ** | 0.170 | 0.407 * | -0.003 | 0.014 | 0.053 | -0.065 | 0.093 | 0.076 | 0.320 |
| NpanT | | | | | 0.797 *** | -0.045 | -0.153 | 0.150 | 0.164 | -0.048 | -0.083 | -0.107 | 0.014 | -0.340 | -0.109 |
| Pestot | | | | | | 0.546 ** | -0.001 | 0.316 | 0.207 | -0.013 | -0.074 | 0.016 | -0.088 | 0.030 | 0.208 |
| Pespan | | | | | | | 0.250 | 0.339 | 0.055 | 0.036 | 0.066 | 0.222 | -0.139 | 0.543 ** | 0.541 ** |
| P100 | | | | | | | | -0.094 | -0.215 | -0.003 | 0.629 *** | 0.698 *** | -0.061 | 0.235 | 0.696 *** |
| DiamAM | | | | | | | | | -0.249 | 0.010 | -0.276 | -0.270 | -0.014 | 0.073 | 0.118 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.094 | -0.264 | -0.245 | -0.021 | 0.128 | -0.068 |
| Madur | | | | | | | | | | | -0.085 | 0.011 | -0.083 | 0.139 | 0.190 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.350 | 0.575 *** | -0.055 | 0.326 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.565 *** | 0.282 | 0.552 ** |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.291 | -0.204 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.626 *** |

F2MS-B campo

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|----------|----------|----------|--------|---------|---------|-----------|-----------|---------|
| Alt | 0.995 *** | 0.863 *** | 0.457 * | 0.038 | 0.243 | 0.442 * | 0.594 ** | 0.484 * | 0.283 | -0.319 | 0.111 | 0.097 | 0.014 | -0.099 | 0.132 |
| Ltallo | | 0.807 *** | 0.397 | 0.107 | 0.294 | 0.412 | 0.603 ** | 0.465 * | 0.247 | -0.302 | 0.078 | 0.134 | -0.035 | -0.062 | 0.145 |
| LpanM | | | 0.679 *** | -0.312 | -0.051 | 0.521 * | 0.449 * | 0.498 * | 0.417 | -0.352 | 0.257 | -0.100 | 0.255 | -0.270 | 0.045 |
| LhojaM | | | | -0.612 ** | -0.377 | 0.371 | 0.108 | 0.303 | 0.210 | -0.289 | 0.050 | -0.303 | 0.212 | -0.203 | -0.388 |
| NpanT | | | | | 0.864 *** | -0.176 | 0.335 | -0.145 | -0.199 | 0.206 | -0.066 | 0.421 | -0.311 | 0.167 | 0.387 |
| Pestot | | | | | | 0.328 | 0.449 * | 0.123 | 0.074 | -0.045 | 0.127 | 0.416 | -0.153 | 0.001 | 0.288 |
| Pespan | | | | | | | 0.257 | 0.568 ** | 0.551 ** | -0.394 | 0.371 | -0.044 | 0.325 | -0.375 | -0.153 |
| P100 | | | | | | | | 0.196 | 0.211 | -0.173 | 0.502 * | 0.489 * | 0.093 | 0.259 | 0.438 * |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.128 | -0.312 | 0.221 | -0.155 | 0.275 | -0.303 | 0.098 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.389 | 0.334 | 0.181 | 0.143 | -0.612 ** | -0.188 |
| Madur | | | | | | | | | | | -0.296 | -0.119 | -0.157 | 0.510 * | 0.273 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.080 | 0.776 *** | -0.171 | 0.363 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.565 ** | 0.232 | 0.282 |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.280 | 0.136 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.418 |

F2MS-B balsetas

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|---------|-----------|-------|-----------|----------|-----------|--------|----------|----------|--------|---------|-----------|----------|----------|
| Alt | 0.968 *** | 0.631 * | 0.545 | 0.152 | 0.369 | 0.316 | 0.419 | 0.017 | -0.390 | -0.614 * | 0.540 | -0.146 | 0.483 | 0.723 * | 0.687 * |
| Ltallo | | 0.418 | 0.362 | 0.134 | 0.305 | 0.172 | 0.245 | -0.024 | -0.323 | -0.587 * | 0.490 | -0.236 | 0.499 | 0.709 * | 0.752 ** |
| LpanM | | | 0.850 *** | 0.042 | 0.485 | 0.757 ** | 0.840 *** | -0.144 | -0.254 | -0.085 | 0.424 | 0.366 | 0.122 | 0.309 | 0.009 |
| LhojaM | | | | 0.167 | 0.438 | 0.536 * | 0.718 ** | -0.081 | -0.553 * | -0.254 | 0.277 | 0.137 | 0.128 | 0.428 | 0.053 |
| NpanT | | | | | 0.812 *** | -0.256 | 0.135 | -0.044 | -0.346 | -0.258 | -0.114 | 0.063 | -0.132 | 0.247 | 0.031 |
| Pestot | | | | | | 0.335 | 0.543 * | -0.016 | -0.218 | -0.199 | 0.072 | 0.240 | -0.085 | 0.386 | -0.073 |
| Pespan | | | | | | | 0.746 ** | 0.125 | 0.166 | 0.025 | 0.207 | 0.317 | -0.014 | 0.335 | -0.265 |
| P100 | | | | | | | | -0.110 | -0.204 | 0.016 | 0.294 | 0.608 * | -0.117 | 0.407 | 0.052 |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.271 | -0.127 | -0.345 | -0.197 | -0.146 | 0.354 | -0.436 |
| Porte | | | | | | | | | | 0.312 | -0.417 | 0.258 | -0.455 | -0.376 | -0.300 |
| Madur | | | | | | | | | | | 0.337 | 0.351 | 0.073 | -0.579 * | -0.020 |
| L | | | | | | | | | | | | -0.087 | 0.829 *** | -0.066 | 0.534 * |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.629 * | -0.126 | -0.156 |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | 0.028 | 0.521 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.048 |

F2MS-C campo

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|--------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|
| Alt | 0.969 *** | 0.742 *** | 0.604 ** | -0.436 * | -0.247 | 0.256 | 0.509 * | -0.035 | 0.506 * | -0.040 | 0.321 | 0.261 | 0.123 | 0.353 | 0.447 * |
| Ltallo | | 0.554 ** | 0.502 * | -0.422 | -0.286 | 0.196 | 0.379 | -0.136 | 0.482 * | 0.007 | 0.222 | 0.234 | 0.049 | 0.295 | 0.341 |
| LpanM | | | 0.675 *** | -0.324 | -0.058 | 0.333 | 0.715 *** | 0.252 | 0.398 | -0.155 | 0.507 * | 0.240 | 0.308 | 0.390 | 0.582 ** |
| LhojaM | | | | 0.025 | 0.160 | 0.165 | 0.499 * | 0.002 | 0.243 | 0.078 | 0.469 * | 0.162 | 0.329 | 0.131 | 0.390 |
| NpanT | | | | | 0.624 ** | -0.538 * | -0.138 | -0.386 | -0.477 * | 0.235 | -0.359 | 0.064 | -0.393 | -0.144 | -0.196 |
| Pestot | | | | | | 0.308 | 0.066 | -0.036 | -0.317 | -0.165 | -0.427 | 0.383 | -0.684 ** | -0.152 | -0.115 |
| Pespan | | | | | | | 0.200 | 0.422 | 0.196 | -0.451 * | 0.026 | 0.289 | -0.183 | 0.005 | 0.085 |
| P100 | | | | | | | | 0.334 | 0.401 | 0.218 | 0.693 *** | 0.703 *** | 0.140 | 0.019 | 0.415 |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.405 | -0.358 | 0.300 | 0.147 | 0.168 | 0.055 | 0.068 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.055 | 0.339 | 0.288 | 0.110 | 0.432 | 0.485 * |
| Madur | | | | | | | | | | | 0.265 | 0.130 | 0.159 | -0.105 | 0.203 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.298 | 0.711 *** | -0.090 | 0.168 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.459 * | -0.047 | 0.022 |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.046 | 0.159 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.699 *** |

F2MS-C balseías

| | Ltallo | LpanM | LhojaM | NpanT | Pestot | Pespan | P100 | DiamAM | Porte | Madur | L | A | L/A | PerIT | TMP |
|--------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|-------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Alt | 0.984 *** | 0.904 *** | 0.870 *** | 0.438 | 0.717 *** | 0.758 *** | 0.777 *** | 0.586 ** | 0.211 | -0.510 * | 0.690 ** | 0.369 | 0.448 | 0.156 | 0.256 |
| Ltallo | | 0.814 *** | 0.818 *** | 0.410 | 0.658 ** | 0.700 ** | 0.725 *** | 0.522 * | 0.163 | -0.508 * | 0.660 ** | 0.354 | 0.426 | 0.151 | 0.176 |
| LpanM | | | 0.878 *** | 0.438 * | 0.753 *** | 0.805 *** | 0.749 *** | 0.655 ** | 0.278 | -0.471 * | 0.538 * | 0.290 | 0.372 | 0.175 | 0.398 |
| LhojaM | | | | 0.183 | 0.530 * | 0.746 *** | 0.617 ** | 0.418 | 0.302 | -0.406 | 0.480 * | 0.164 | 0.381 | 0.111 | 0.252 |
| NpanT | | | | | 0.859 *** | 0.313 | 0.222 | 0.514 * | 0.264 | -0.507 * | 0.177 | -0.137 | 0.243 | -0.045 | -0.159 |
| Pestot | | | | | | 0.729 *** | 0.432 | 0.637 ** | 0.331 | -0.554 * | 0.367 | -0.080 | 0.386 | 0.014 | 0.065 |
| Pespan | | | | | | | 0.627 ** | 0.482 * | 0.300 | -0.394 | 0.467 * | 0.234 | 0.330 | 0.155 | 0.326 |
| P100 | | | | | | | | 0.456 * | 0.265 | -0.197 | 0.618 ** | 0.694 *** | 0.238 | 0.236 | 0.335 |
| DiamAM | | | | | | | | | 0.331 | -0.550 ** | 0.214 | 0.083 | 0.167 | 0.144 | 0.297 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.249 | 0.254 | -0.060 | 0.291 | -0.039 | -0.022 |
| Madur | | | | | | | | | | | -0.053 | 0.080 | -0.089 | -0.020 | 0.124 |
| L | | | | | | | | | | | | 0.248 | 0.854 *** | -0.058 | 0.295 |
| A | | | | | | | | | | | | | -0.291 | 0.587 ** | 0.487 * |
| L/A | | | | | | | | | | | | | | -0.363 | 0.041 |
| PerIT | | | | | | | | | | | | | | | 0.669 ** |

Tabla 17. Correlaciones fenotípicas entre los caracteres estudiados en las poblaciones F3J y MS y en las subfamilias del cruzamiento MS. * = significativo $p(\alpha) \leq 0.05$, ** = significativo $p(\alpha) \leq 0.01$, *** = significativo $p(\alpha) \leq 0.001$. Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

| F3J | | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Maclur |
|--------|----------|----------|----------|---------|----------|-----------|----------|----------|---------|-----------|--------|
| Alt | 0.98 *** | 0.79 *** | 0.51 *** | -0.11 | -0.07 | 0.00 | 0.03 | 0.34 *** | 0.11 | -0.27 *** | |
| Ltallo | | 0.66 *** | 0.50 *** | -0.08 | -0.03 | 0.01 | 0.09 | 0.30 *** | 0.10 | -0.25 ** | |
| Lpan | | | 0.40 *** | -0.17 * | -0.17 * | -0.02 | -0.15 | 0.40 *** | -0.10 | -0.26 ** | |
| Entrn | | | | -0.16 * | -0.02 | 0.13 | 0.30 *** | 0.05 | -0.03 | -0.11 | |
| NpanT | | | | | 0.68 *** | -0.31 *** | 0.09 | -0.14 | 0.21 ** | 0.15 | |
| Pestot | | | | | | 0.48 *** | -0.09 | -0.10 | 0.04 | 0.40 *** | |
| Pespan | | | | | | | -0.26 ** | 0.05 | -0.20 * | 0.36 *** | |
| DiamT | | | | | | | | -0.16 * | -0.02 | 0.02 | |
| DobIT | | | | | | | | | -0.01 | -0.21 ** | |
| Porte | | | | | | | | | | -0.09 | |

| F3MS | | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Maclur |
|--------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|-----------|----------|---------|----------|--------|
| Alt | 0.96 *** | 0.64 *** | 0.66 *** | 0.04 | 0.12 | 0.08 | 0.02 | 0.31 *** | 0.14 | -0.22 ** | |
| Ltallo | | 0.40 *** | 0.69 *** | 0.12 | 0.16 | 0.02 | 0.17 * | 0.28 *** | 0.20 * | -0.22 * | |
| Lpan | | | 0.28 *** | -0.19 * | -0.03 | 0.21 * | -0.40 *** | 0.26 ** | -0.07 | -0.13 | |
| Entrn | | | | 0.10 | 0.25 ** | 0.26 ** | 0.31 *** | 0.21 * | 0.23 ** | -0.08 | |
| NpanT | | | | | 0.81 *** | -0.25 ** | 0.49 *** | 0.19 * | 0.08 | 0.08 | |
| Pestot | | | | | | 0.34 *** | 0.36 *** | 0.17 * | 0.12 | 0.21 * | |
| Pespan | | | | | | | -0.16 | -0.02 | 0.07 | 0.23 ** | |
| DiamT | | | | | | | | 0.13 | 0.24 ** | 0.03 | |
| DobIT | | | | | | | | | 0.06 | -0.10 | |
| Porte | | | | | | | | | | -0.02 | |

F3MS-A

| | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Maedur |
|--------|----------|----------|----------|---------|----------|--------|---------|--------|--------|---------|
| Alt | 0.97 *** | 0.69 *** | 0.70 *** | -0.14 | -0.11 | 0.01 | 0.06 | 0.15 | 0.03 | -0.26 * |
| Ltallo | | 0.48 *** | 0.70 *** | -0.08 | -0.06 | 0.00 | 0.17 | 0.08 | 0.12 | -0.24 |
| Lpan | | | 0.42 *** | -0.26 * | -0.21 | 0.04 | -0.30 * | 0.30 * | -0.24 | -0.20 |
| Entrn | | | | -0.05 | 0.08 | 0.21 | 0.39 ** | 0.14 | 0.13 | -0.30 * |
| NpanT | | | | | 0.83 *** | -0.24 | 0.31 * | 0.07 | 0.00 | 0.02 |
| Pestot | | | | | | 0.32 * | 0.25 | 0.03 | 0.00 | 0.10 |
| Pespan | | | | | | | -0.11 | -0.01 | -0.01 | 0.11 |
| DiamT | | | | | | | | 0.22 | 0.30 * | -0.07 |
| DobIT | | | | | | | | | 0.05 | -0.08 |
| Porte | | | | | | | | | | -0.15 |

F3MS-B

| | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Maedur |
|--------|----------|----------|----------|-------|----------|---------|----------|-------|--------|--------|
| Alt | 0.98 *** | 0.60 *** | 0.77 *** | 0.04 | 0.06 | -0.01 | -0.13 | 0.14 | 0.19 | -0.22 |
| Ltallo | | 0.41 * | 0.79 *** | 0.09 | 0.06 | -0.09 | -0.01 | 0.13 | 0.24 | -0.17 |
| Lpan | | | 0.32 | -0.16 | 0.03 | 0.28 | -0.50 ** | 0.12 | -0.12 | -0.27 |
| Entrn | | | | 0.24 | 0.34 * | 0.16 | 0.17 | 0.06 | 0.40 * | -0.09 |
| NpanT | | | | | 0.81 *** | -0.12 | 0.56 *** | 0.30 | 0.07 | 0.43 * |
| Pestot | | | | | | 0.46 ** | 0.50 ** | 0.18 | 0.10 | 0.34 * |
| Pespan | | | | | | | 0.08 | -0.13 | 0.04 | -0.04 |
| DiamT | | | | | | | | -0.13 | 0.12 | 0.31 |
| DobIT | | | | | | | | | -0.06 | 0.26 |
| Porte | | | | | | | | | | 0.04 |

F3MS-C

| | Ltallo | Lpan | Entrn | NpanT | Pestot | Pespan | DiamT | DobIT | Porte | Madur |
|--------|----------|----------|----------|--------|----------|----------|----------|----------|-------|----------|
| Alt | 0.98 *** | 0.71 *** | 0.55 *** | 0.36 * | 0.42 ** | 0.03 | 0.28 | 0.56 *** | 0.22 | -0.35 * |
| Ltallo | | 0.57 *** | 0.59 *** | 0.38 * | 0.43 ** | 0.03 | 0.35 * | 0.57 *** | 0.22 | -0.30 |
| Lpan | | | 0.24 | 0.15 | 0.21 | 0.03 | -0.11 | 0.31 * | 0.13 | -0.43 ** |
| Entrn | | | | 0.10 | 0.24 | 0.26 | 0.33 * | 0.36 * | 0.13 | 0.04 |
| NpanT | | | | | 0.85 *** | -0.45 ** | 0.64 *** | 0.32 * | 0.14 | -0.02 |
| Pestot | | | | | | 0.06 | 0.42 ** | 0.31 * | 0.12 | 0.10 |
| Pespan | | | | | | | -0.47 ** | -0.08 | -0.03 | 0.23 |
| DiamT | | | | | | | | 0.28 | 0.29 | 0.08 |
| DobIT | | | | | | | | | 0.11 | -0.32 * |
| Porte | | | | | | | | | | -0.05 |

4.2.6. Respuesta a la selección

Se seleccionaron los mejores genotipos en F3 para los caracteres relacionados con el encamado, aplicando selección negativa en la altura, y positiva en el diámetro y la resistencia al doblado; en el número de panículas y la longitud del entrenudo se aplicó tanto selección positiva como negativa. La tabla 18 muestra los resultados de la selección.

| | | F3 | F3 seleccionadas | F4 | S | R |
|--------------|----------|-------|------------------|-------|--------|------------|
| Población J | Alt(-) | 87.06 | 72.52 | 63.29 | -14.54 | -23.77 *** |
| | Diam(+) | 0.72 | 0.84 | 0.97 | 0.12 | 0.25 *** |
| | Npan(+) | 12.32 | 16.58 | 18.19 | 4.26 | 5.87 *** |
| | Npan(-) | 12.32 | 8.86 | 13.08 | -3.46 | 0.76 |
| | Entrn(+) | 12.94 | 16.08 | 15.85 | 3.14 | 2.91 *** |
| | Entrn(-) | 12.94 | 10.19 | 12.86 | -2.75 | -0.08 |
| | Dobl(+) | 3.63 | 4.74 | 4.73 | 1.11 | 1.10 * |
| Población MS | Alt(-) | 86.76 | 74.58 | 67.29 | -12.18 | -19.47 *** |
| | Diam(+) | 0.75 | 0.92 | 0.97 | 0.17 | 0.22 *** |
| | Npan(+) | 12.47 | 18.85 | 15.12 | 6.38 | 2.65 |
| | Npan(-) | 12.47 | 8.56 | 11.86 | -3.91 | -0.61 |
| | Entrn(+) | 11.53 | 15.52 | 15.87 | 3.99 | 4.34 *** |
| | Entrn(-) | 11.53 | 8.61 | 12.33 | -2.92 | 0.80 |
| | Dobl(+) | 3.12 | 4.39 | 3.59 | 1.27 | 0.47 |

Tabla 18. Respuesta a la selección en los caracteres relacionados con el encamado. Las tres primeras columnas muestran las medias de las líneas. (S): diferencial de selección y (R): estima aproximada de la respuesta a la selección. Significación de la R según una prueba t-Student:

* ≤ 0.05 , ** ≤ 0.01 , *** ≤ 0.001 . Abreviaturas de los caracteres según la tabla 7.

En ambas poblaciones, la selección para reducir la altura y aumentar el diámetro y la longitud del segundo entrenudo fue efectiva. También lo fue para un mayor número de panículas y resistencia al doblado en la población J. Sin embargo, no hay una clara respuesta a la selección si lo que pretendemos es reducir la longitud de los entrenudos o el número de hijuelos.

4.3. Detección de QTLs en la población MS

Al comprobarse que la población MS está compuesta por tres subfamilias, se han realizado análisis de detección de QTLs en cada una de ellas: en F2, considerando conjuntamente los datos de los dos ambientes, y en F3. Sin embargo, para el análisis de los efectos ambientales, se consideraron los valores fenotípicos de la población F2MS en su conjunto en cada uno de los ambientes ensayados. En el análisis de QTLs, para cada subfamilia se utilizó su mapa de

ligamiento. Sin embargo, para poder representar los QTLs en un único mapa de ligamiento, se calculó un mapa consenso entre los mapas de las tres subfamilias (figuras 20-24).

Los QTLs detectados y presentados a continuación corresponden al resultado del mapeo por intervalos compuesto (CIM) cuando existen grupos de ligamiento, y al análisis marcador a marcador en los casos de marcadores no ligados. En el primer caso, el umbral utilizado para declarar como significativa la presencia de un QTL ha sido un LR mayor de 9 (que corresponde a un LOD de 1.954), aunque se aceptaron como “posible QTL” aquellos picos con LR superior a 6 (LOD de 1.303), cuando en este intervalo se ha detectado presencia de un QTL significativo en otra subfamilia o ambiente. El análisis CIM nos ha permitido estimar también los efectos aditivo y dominante de cada QTL y su contribución relativa a la variación fenotípica observada (R^2). En el caso del análisis marcador a marcador sólo se puede estimar el valor aditivo del QTL, y la significación de los QTLs viene dada por un estadístico F, declarándose QTLs a las asociaciones con una probabilidad de error de tipo I inferior o igual al 5%.

Caracteres de longitud

En la tabla 19 se muestran los QTLs detectados en los caracteres relacionados con la elongación (altura, longitud del tallo, de panícula y de la hoja bandera) en las tres subfamilias, en las dos generaciones, y en los dos ambientes estudiados en F2. También se muestran los resultados correspondientes a la longitud del segundo entrenudo basal, analizada únicamente en F3.

Se han encontrado QTLs para al menos uno de los caracteres en todos los cromosomas, excepto en el 7 y el 10. En ocho intervalos se han detectado QTLs que afectan, simultáneamente, al menos a cuatro de los caracteres de longitud; aunque no siempre se manifiestan en las mismas subfamilias y/o ambientes.

La altura total de la planta de arroz resulta de la suma de la longitud del tallo y de panícula. Al comparar los QTLs detectados en estos tres caracteres, encontramos que de diecisiete QTLs detectados para altura, doce coinciden con los de la longitud del tallo y diez con los de longitud de panícula, aunque dos intervalos muestran efectos significativos sólo en altura. Puesto que en mejora puede ser más interesante seleccionar por separado los diferentes componentes

de un carácter complejo (en este caso la altura total) nos detendremos a continuación con mayor detalle en el análisis de QTLs en cada uno de los parámetros de longitud.

En cuanto a la longitud del tallo, en la subfamilia A se han detectado cuatro QTLs que explican más del 35% de la variación fenotípica tanto en F2 como en F3. Destaca el situado en el cromosoma 6, que tiene un coeficiente de determinación de 22-26% y coincide con un importante QTL de altura; pero sólo se expresa en campo. En este intervalo, el alelo del parental femenino aumenta la elongación, y el efecto dominante es bastante grande. En la subfamilia B se han detectado siete QTLs para la longitud del tallo, que definen más del 85% y 52% de la variación fenotípica detectada en F2 y F3, respectivamente. Tres de ellos se han localizado en zonas en las que no hay segregación en las otras subfamilias. El tipo de acción génica de los QTLs es variable, pero, en general, los alelos maternos disminuyen la elongación y la dominancia es tanto o más importante que la aditividad. En la subfamilia C se han detectado cinco QTLs que explican más del 26% de la variación fenotípica en F2 y del 58% en F3. En general, los efectos aditivos son mayores que los dominantes y el alelo de la madre suele reducir la elongación del tallo. Finalmente, se observa que el ambiente afecta a la expresión de los QTLs de longitud de tallo: dos de los QTLs se detectan sólo en campo, y otros dos muestran, incluso, efectos aditivos de signo opuesto según el ambiente (en estos cuatro casos, en campo el alelo materno aumenta la elongación).

Respecto a la longitud de panícula, en la subfamilia A se han hallado cinco QTLs que determinan más del 24% de la variación fenotípica en F2 y del 46% en F3. Tres de estos QTLs coinciden con otros de altura, y dos con QTLs de longitud del tallo. En general, el alelo materno disminuye la longitud de la panícula. En la subfamilia B se han detectado siete QTLs que explican más del 72% y del 58% de la variación fenotípica en F2 y F3, respectivamente. Dos de estos QTLs se han localizado en zonas en las que no hay segregación en las otras subfamilias. Los QTLs de los cromosomas 1 y 9 coinciden con los detectados en la subfamilia A. En general, el alelo materno disminuye la longitud de la panícula, aunque en la mayoría de casos el efecto dominante es igual o más importante que el aditivo. En la subfamilia C se han detectado tres QTLs, de los que dos coinciden con QTLs detectados de altura y longitud del tallo, que explican el 64% de la variación fenotípica en F2, aunque ninguno de ellos es significativo en F3. En conjunto, los

efectos dominantes son mayores que los aditivos, lo cual puede explicar el hecho de que en F3 estos QTLs no se detecten, ya que al disminuir el número de loci en heterocigosis la contribución de la dominancia es menor en esta generación. Respecto a los efectos ambientales, no son tan pronunciados como sobre los QTLs de longitud del tallo, aunque seis de los QTL sólo se expresan en uno de los ambientes.

En cuanto a los otros caracteres de elongación estudiados, merece la pena destacar que la longitud de la hoja bandera es un carácter claramente influenciado por el ambiente; prueba de ello es que mientras en las subfamilias globales se han detectado pocos QTLs (dos en A y C y cuatro en B), se han hallado nueve QTLs que se manifiestan sólo en uno de los ambientes, o incluso tienen efectos aditivos de signo opuesto según el ambiente (la suma de estos efectos contrapuestos puede explicar por qué los QTLs no se detectan al analizar en las subfamilias conjuntamente los individuos sometidos a los dos ambientes).

Por otro lado, dado que la longitud del segundo entrenudo sólo se midió en F3, no se han analizado los efectos ambientales. Sólo se han detectado QTLs en las subfamilias B y C aunque ninguno de ellos es común a las dos. Sin embargo, sí hay coincidencias con QTLs de longitud del tallo, como era de esperar. En los QTLs que se presentan simultáneamente en estos dos caracteres el alelo materno tiene igual efecto en la elongación. En la subfamilia B se han detectado cuatro QTLs que explican más del 47% de la variación fenotípica observada, y en todos ellos el alelo materno disminuye la elongación. En la subfamilia C los cuatro QTLs detectados explican el 87% de la variación fenotípica observada. En este carácter, en general, la dominancia es de menor magnitud que la aditividad.

Observando los caracteres de longitud en conjunto se detectan varias zonas que tienen un efecto general en la elongación. En el cromosoma 1 se detectan dos QTLs; en el primero, el alelo del parental femenino aumenta la elongación (excepto para la longitud del entrenudo en la subfamilia B) y en el segundo, la disminuye. En el cromosoma 3 hay tres QTLs; en uno de ellos el alelo materno aumenta la elongación, en otro la reduce y en el tercero tiene un efecto distinto en cada subfamilia: en la subfamilia B el alelo materno disminuye la elongación del tallo (y, como consecuencia, la altura), en cambio, aumenta la longitud de la hoja bandera; mientras que en la subfamilia C, el alelo del parental

femenino aumenta tanto la longitud de los entrenudos (y del tallo) como la de la panícula y, por tanto, la altura. Probablemente, estas diferencias son consecuencia de los distintos alelos del parental masculino encontrados en esta zona del cromosoma en las distintas subfamilias. En los cromosomas 4, 6, y 9, se han detectado QTLs que aumentan la longitud del tallo y de la panícula (y, por tanto, la altura) y, excepto el del cromosoma 6, también la longitud de hoja bandera. Puesto que estos QTLs no tienen efectos sobre la longitud del segundo entrenudo, el aumento de la longitud del tallo puede ser debido al aumento del número de entrenudos o a la distancia entre los nudos superiores. Por el contrario, en el cromosoma 11 hay un QTL que disminuye la longitud del segundo entrenudo y, también, la longitud del tallo y la altura.

Tabla 19. QTLs de los caracteres de longitud: altura (Alt), longitud del tallo (Ltallo), de la panícula (Lpan), de la hoja bandera (Lhoja) y de los entrenudos (Entrn), en la población MS. ^aGrupo analizado: el primer dígito corresponde a generación (F2, F3); el segundo dígito, a la subfamilia (A, B, C). ^bAmbiente: mezcla de las tres subfamilias F2 en cada ambiente. ^cLR (Relación de probabilidad), donde : ns = LR no significativo, p (posible QTL) = LR ≥ 6, * = LR ≥ 9, ** = LR ≥ 11, *** = LR ≥ 14, **** = LR ≥ 20. a = efecto aditivo (si es positivo, el alelo del parental femenino aumenta el carácter, si es negativo lo disminuye). d = efecto dominante (si es positivo los alelos en heterocigosis aumentan el carácter, si es negativo, lo disminuyen). R² = coeficiente de determinación en %. ^dNombres de los QTLs. Se han sombreado las zonas en las que no hay segregación.

| Intervalo | QTL ^d | Alt | | | Ltallo | | | Lpan | | | Lhoja | | | Entrn | | | | | | |
|-------------|------------------|--|------|-----|----------------|-----------------|----|------|----------------|-----------------|-------|----|----------------|-----------------|---|---|----------------|--|--|--|
| | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | | |
| Cromosoma 1 | RM294A-RM246 | Análisis ^a ambiente ^b | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | campo | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | *** | 5.73 | 0.86 | 13 | * | 3.22 | 0.07 | 11 | ns | | | | | | | | |
| | RM486-RM165 | Ltallo1.2 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Lhoja1.2 | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | campo | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 2 | RM174-RM438 | Alt2.1 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Ltallo2.1 | 3B | *** | 0.00 | 9.31 | 33 | ** | -2.57 | 4.52 | 17 | ns | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | campo | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | RM475-RM124 | Alt2.2 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | p | -1.28 | -3.90 | 9 | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Lpan2.2 | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| campo | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Alt | | Ltallo | | Lpan | | Lhoja | | Entrn | | | | |
|----------------|--|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|------|------|----|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | | | |
| Crom 2 (cont.) | RM263-RM530 | Lhoja2.1 | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | | |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | | |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 2C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | RM263-RM482 | Alt2.3 | campo | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ** | 1.02 | -2.07 | 12 | | |
| | | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 3B | *** | -4.33 | 4.72 | 19 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| Cromosoma 3 | RM569-RM231 | Lpan3.1 Entrn3.1 | campo | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | | |
| | | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | * | 0.50 | -1.29 | 15 | ns | ns | ns | |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | RM473B-RM564 | Alt3.1 Ltallo3.1 Lpan3.2 Lhoja3.1 | campo | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| RM564-RM347 | Alt3.2 Ltallo3.2 Lpan3.3 Lhoja3.2 | campo | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | | |
| | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | 2A | ** | -2.10 | 6.41 | 14 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | | |
| | | 3A | p | -0.54 | 6.30 | 18 | p | -0.84 | 3.46 | 8 | p | -0.25 | 2.72 | 14 | |
| | | 2B | p | 4.17 | 7.18 | 26 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | campo | 2C | ** | -6.92 | -0.08 | 20 | *** | -7.18 | -0.49 | 26 | ns | ns | ns | |
| | | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2C | p | 2.33 | 4.93 | 11 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | campo | ns | ns | ns | ns | p | 0.40 | 7.24 | 25 | ** | 1.34 | 1.93 | 25 |
| | | | bals | p | -0.12 | 6.41 | 19 | *** | -0.07 | 7.26 | 39 | * | 2.59 | 2.71 | 29 |

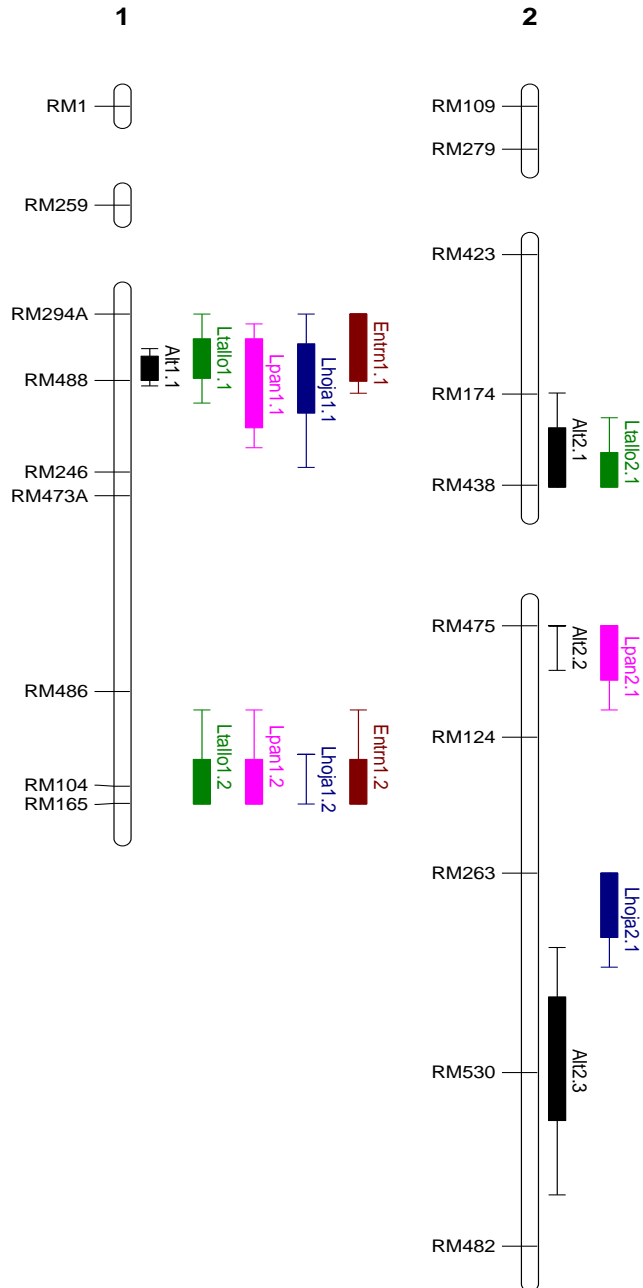
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Alt | | Ltallo | | Lpan | | Lhoja | | Entrn | | | | |
|----------------|--------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|---------------|----|---|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | | | |
| Crom 3 (cont.) | RM347-RM168 | Entnr3.2 | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | campo | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | 1.17 | 1.11 | 17 | | |
| | RM422-RM514(RM148) | Alt3.3 | Ltallo3.3 | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| | | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2B | * | -4.57 6.40 20 | * | -5.08 3.37 13 | | | p | 0.64 2.58 11 | | | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3C | *** | 2.91 -5.47 17 | * | 1.55 -4.34 10 | | | ns | | ns | | p |
| campo | | | | ns | | ns | | ns | | p | 0.33 -1.65 12 | | | ns | |
| RM335-RM146 | Alt4.1 | Ltallo4.1 | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 2B | * | 5.01 -1.16 20 | * | 3.93 -2.96 16 | | | ns | | p | 1.53 -1.85 14 | | |
| | | | 3B | ** | 3.62 1.77 12 | p | 2.34 2.53 11 | | | * | 0.48 1.65 20 | | | | |
| | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | campo | ns | | ns | | p | 2.81 0.55 8 | | ns | | ns | | |
| | | | bals | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | pel.-RM548 | Ltallo5.1 | campo | 2A | ns | | | | | | | | |
| | | | | | | 3A | ns | | | | | | | | |
| 2B | ns | | | | | ** | -1.69 -7.52 29 | | | ns | | ns | | | |
| 3B | ns | | | | | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | |
| 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | |
| RM548-RM574 | Ltallo5.2 | campo | 2A | ns | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | *** | 7.28 -3.19 27 | | | ns | | ns | | | |
| | | | 3B | ns | | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 2C | ns | | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 3C | ns | | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | campo | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | bals | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | | |

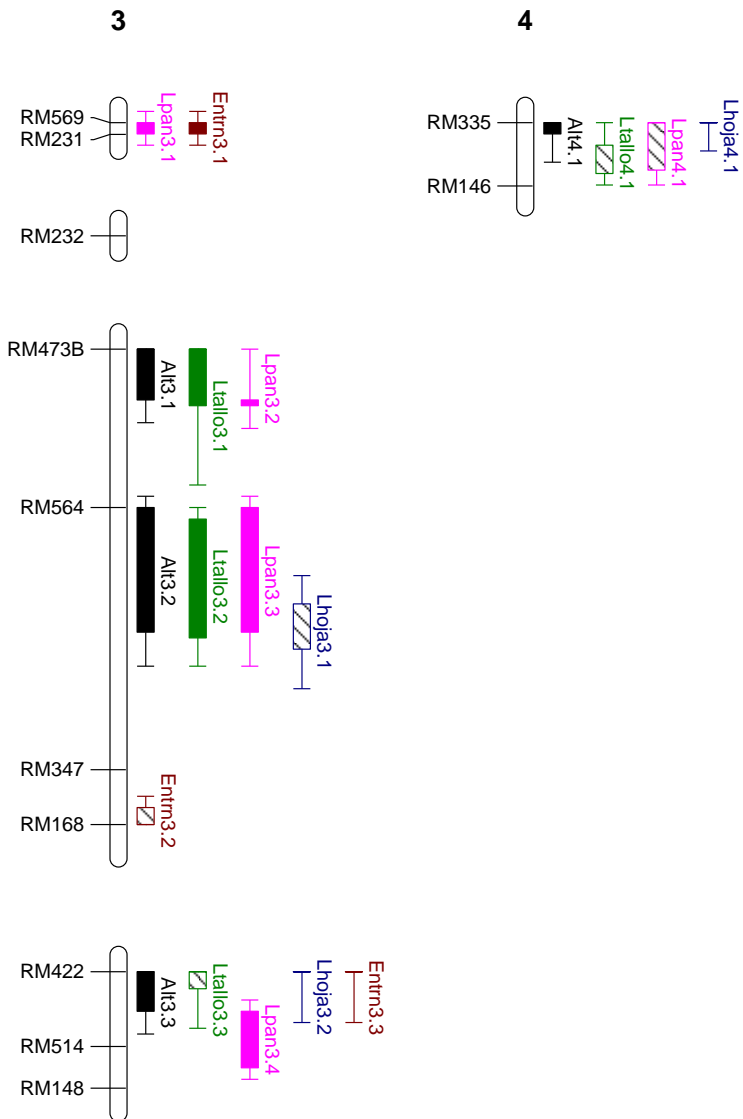
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Alt | | Ltallo | | Lpan | | Lhoja | | Entrn | | |
|---------------------|---------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | |
| Cromosoma 5 (cont.) | RM430 | Lhoja5.1 | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | RM87 | Alt5.1 Ltallo5.3 Lpan5.1 Entrn5.1 | campo | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ** | -1.52 | ns | ns |
| | | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | * | -0.89 | ns | ns |
| | | | 2B | ** | -5.04 | ** | -4.09 | * | -0.95 | * | -0.95 | ns | ns |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | *** |
| Cromosoma 6 | RM541-RM162 | Alt6.1 Ltallo6.1 Lpan6.1 Lhoja6.1 | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ** | -0.25 | 1.71 | 19 |
| | | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 2C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | RM162-RM400 | Alt6.2 | campo | * | -5.19 | * | -3.27 | ** | -1.87 | ** | -2.39 | ns | ns |
| | | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | 3B | * | 4.89 | 3.79 | 12 | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| RM295-RM340 | Alt6.3 Ltallo6.2 | 2C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | campo | ** | 3.94 | 7.37 | 21 | ** | 2.32 | 6.91 | 22 | ns | ns | |
| | | bals | *** | 4.57 | 5.49 | 27 | ** | 3.30 | 5.03 | 26 | ns | ns | |
| | | 2A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 3A | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| RM295-RM340 | Alt6.3 Ltallo6.2 | 2B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 3B | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 2C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | 3C | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | campo | *** | 4.14 | 1.45 | 12 | p | 4.89 | 3.79 | 12 | ns | ns | |
| | | bals | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |

| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Alt | | Ltallo | | Lpan | | Lhoja | | Entrn | | |
|-------------|------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|------|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | |
| Cromosoma 8 | RM72-RM44 | Alt8.1 | 2A | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | |
| | | | 2B | ** | -1.67 | 5.53 | 13 | | | | | | |
| | | | 3B | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | | | | | | | | | | |
| | | campo | bals | | | | | | | | | | |
| | RM42 | Alt8.2 | Ltallo8.1 | 2A | ns | | | ns | | ns | | ns | |
| | | | | 3A | ns | | | ns | | ns | | ns | |
| | | | | 2B | ns | | | | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | | | | |
| | | | | 2C | * | 5.08 | | 4.09 | | | | ** | 2.33 |
| 3C | | | | ns | | | | ns | | ns | | ns | |
| | campo | bals | ns | | | ns | | ns | | ns | | | |
| RM47 | Lpan8.1 | Lhoja8.2 | 2A | ns | | | ns | | ** | -1.58 | | ns | |
| | | | 3A | ns | | | ns | | ** | -1.21 | | ns | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | ns | | ns | |
| | campo | bals | ns | | | ns | | ns | | ns | | | |
| Crom 9 | RM215 | Alt9.1 | 2A | ** | 4.68 | | ** | 3.82 | * | 1.04 | | ns | |
| | | | 3A | ns | | | * | 2.36 | ns | | ** | 1.97 | |
| | | | 2B | ns | | | ns | | * | 1.09 | * | 2.38 | |
| | | | 3B | p | 4.58 | | ns | | * | 1.39 | ns | | |
| | | | 2C | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 3C | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | campo | bals | ** | 4.05 | | * | 2.66 | *** | 1.40 | | ns | |
| | RM206-RM144 | Alt11.1 | Ltallo11.1 | 2A | * | 3.69 | | ** | 3.01 | ns | | * | 1.61 |
| | | | | 3A | ns | | | | | ns | | ns | |
| | | | | 2B | ns | | | ns | | ns | | ns | |
| | | | | 3B | ns | | | ns | | ns | | ns | |
| | | | | 2C | ** | -4.29 | 5.10 | 22 | p | -2.30 | 2.65 | 10 | ns |
| 3C | | | | *** | -5.91 | -1.38 | 24 | *** | -4.94 | -1.24 | 22 | ns | |
| | campo | bals | p | -3.32 | -1.42 | 5 | ns | | ns | | ns | | |
| Crom 11 | RM206-RM144 | Entrn11.1 | 2A | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 3A | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 2B | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 3B | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | 2C | *** | -1.81 | 0.64 | 30 | *** | -1.81 | 0.64 | 30 | ns | |
| | | | 3C | ns | | | ns | | ns | | ns | | |
| | campo | bals | ns | | | ns | | ns | | ns | | | |

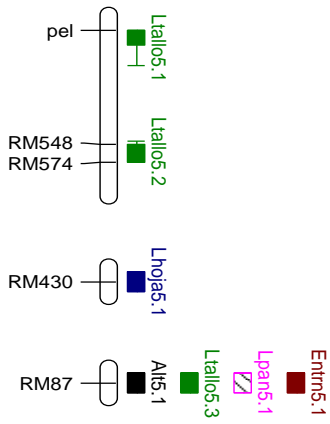
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Alt | | Ltallo | | Lpan | | Lhoja | | Entrn | | |
|-----------------|------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|--|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | |
| Crom 11 (cont.) | RM105-RM224 | Alt11.2 Entrn11.2 | 2A | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | p -0.95 0.32 7 | |
| | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | campo | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| | | bals | ** | -4.40 3.60 21 | ns | | ns | | ns | | | | |
| | RM101-RM260 | Ltallo12.1 Lhoja12.1 | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | |
| | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | p 0.85 -2.10 14 | |
| | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | | |
| 2C | | | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| 3C | | | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| | campo | ns | | * | -2.76 | ns | | ns | | ns | | | |
| | bals | ns | | ** | 2.86 | ns | | ns | | * | 1.37 | | |
| | | ns | | * | -2.04 | ns | | ns | | * | -1.26 | | |
| RM260-RM309 | Lpan12.1 | 2A | | | | | | | | | | | |
| | | 3A | | | | | | | | | | | |
| | | 2B | ns | | ns | | *** | -0.47 1.92 30 | | ns | | | |
| | | 3B | ns | | ns | | p | -0.26 1.90 19 | | | | ns | |
| | | 2C | | | | | | | | | | | |
| | | 3C | | | | | | | | | | | |
| | campo | | | | | | | | | | | | |
| | bals | | | | | | | | | | | | |

Figura 20. QTLs de los caracteres de longitud: altura (Alt), longitud del tallo (Ltallo), de la panícula (Lpan), de la hoja bandera (Lhoja) y de los entrenudos (Entrn), en la población MS. Las barras sólidas corresponden a $LR \geq 10$, y las rayadas a $LR \geq 8$; los brazos son el intervalo de confianza del QTL. Se han representado sólo con una línea los posibles QTLs ($LR \geq 6$).

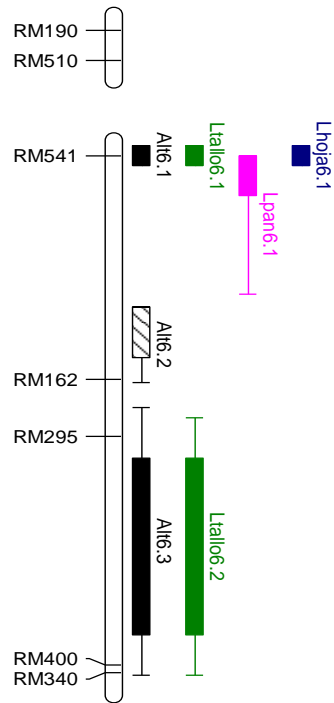




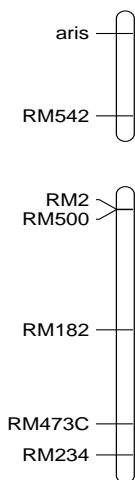
5



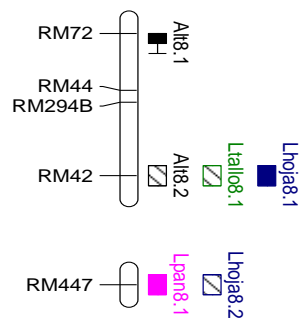
6



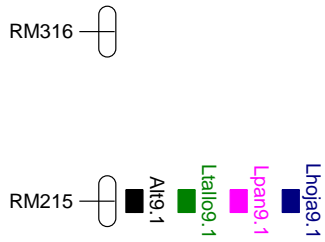
7



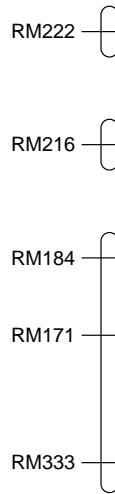
8



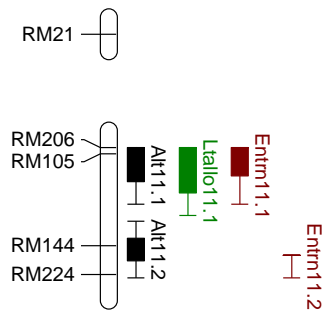
9



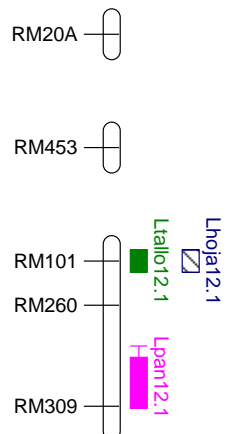
10



11



12



Caracteres de producción

En la tabla 20 se muestran los QTLs detectados para los caracteres relacionados con la producción: peso total de las panículas, número de panículas, peso medio de la panícula y peso de 100 (este último, sólo en F2).

Se han encontrado QTLs implicados en alguno de los caracteres de producción en todos los cromosomas, al menos en alguna de las subfamilias o ambientes. En doce intervalos se han detectado QTLs que afectan, simultáneamente, al menos a tres de los parámetros de producción, aunque no siempre se manifiestan en las mismas subfamilias y/o ambientes.

Dado que el peso total está determinado por el número de panículas y por el peso de éstas, no es de extrañar que los QTLs que afectan al peso total sean los mismos que determinan alguno de sus componentes, o ambos. A continuación se detallan los resultados obtenidos en el número de panículas y el peso de la panícula, así como en el peso de cien granos.

Se han detectado cinco QTL que controlan el número de panículas en la subfamilia A. Un único QTL, en el cromosoma 6, es responsable del 32% de la variación fenotípica en F2, y cinco explican el 50% de la variación en F3. El QTL del cromosoma 6 coincide con otro que controla el peso de los granos, afectando también de forma considerable al peso total (para el que representa el 38% de la variación fenotípica en F2). En la subfamilia B se han detectado diez QTLs para el número de panículas, cuatro de los cuales se encuentran en zonas que no segregan en las otras subfamilias. Entre todos explican más del 81% de la variación fenotípica en F2 y prácticamente el total de ésta en F3. Nueve de estos QTLs coinciden con otros encontrados al estudiar el peso total. Curiosamente, en los QTLs que se detectan en las dos generaciones, hay un cambio de signo en la aditividad. En la subfamilia C se detectan cinco QTLs que explican más del 48% de la variación del número de panículas en F2 y el 35% en F3. Tres de estos QTLs coinciden con otros encontrados para el peso total. En las tres subfamilias, el signo del valor aditivo es diferente según el QTL y en algunos casos el valor del efecto dominante es importante. Los efectos ambientales en el número de panículas son considerables: se han encontrado tres QTLs en campo que no se detectan en balsetas, un QTL que sólo se detecta en balsetas, y un único QTL se detecta en los dos ambientes.

En lo referente al peso medio de la panícula, en la subfamilia A se han detectado cuatro QTLs de efectos pequeños, que determinan algo más del 9% de

la variación fenotípica en F2 y el 24% en F3. En la subfamilia B se han detectado siete QTLs que explican más del 69% de la variación en F2 y casi en 50% en F3. En la subfamilia C se han detectado siete QTLs que explican prácticamente el total de la variación fenotípica en F2 y el 37% en F3. En general la aditividad es positiva en las subfamilias A y C y negativa en la B y los efectos dominantes son importantes. En cuanto a los efectos ambientales, se han detectado cuatro QTLs que sólo se presentan en uno de los ambientes, aunque sólo dos de ellos tienen una significación alta. En todos los casos, en campo el alelo materno aumenta el peso de la panícula y en balsetas lo disminuye. Se trataría, pues, de un carácter con poca influencia ambiental, de acuerdo con la alta heredabilidad en sentido amplio observada. Pero la heredabilidad en sentido estricto es nula, en consonancia con los efectos dominantes importantes que señala el análisis de QTLs.

Respecto al peso de 100 granos, en la subfamilia A se han detectado seis QTLs que explican el 80% de la variación fenotípica. La aditividad es de distinto signo según el QTL. En la subfamilia B se han detectado seis QTLs que describen el total de la variación del carácter (de hecho, la suma de los coeficientes de determinación es bastante superior al 100%). Los efectos aditivos son distintos para cada QTL aunque predominan los negativos, y los efectos dominantes son considerables. En la subfamilia C se han detectado cinco QTLs cuya contribución al valor fenotípico es del 57%. Tal como ocurre en la subfamilia B, los valores de dominancia son bastante altos. Se han encontrado cuatro QTLs coincidentes en, al menos, dos de las tres subfamilias, aunque llama la atención el situado en el cromosoma 3, cuyo efecto aditivo cambia de signo según el alelo paterno (diferente en cada subfamilia). Inesperadamente, el efecto ambiental es muy importante, ya que se han hallado cuatro QTLs que sólo se detectan en balsetas, tres de ellos altamente significativos.

Finalmente, cabe destacar que las zonas que controlan los caracteres de producción se concentran en los cromosomas 1, 3, 5, 6, 7 y 12. En general, en los casos en los que el alelo materno aumenta (o disminuye) el número de panículas también lo hace el peso total, siendo el número de panículas más determinante en la producción final que su peso. Esto está de acuerdo con la mayor correlación entre la producción total y el número de panículas que con el peso de éstas en todas las subfamilias y ambientes analizados. Del mismo modo, en la mayoría de los casos el alelo que aumenta (o disminuye) el peso de los granos también lo hace con el peso de la panícula, excepto en el QTL P100-7.1 en el que parece no influir tanto en el peso de la panícula como el número de granos.

Tabla 20. QTLs de los caracteres de producción: peso total de las panículas (Pestot), número de panículas (Npan), peso medio de la panícula (Pespan) y peso de 100 granos (P100), en la población MS^a Grupo analizado: el primer dígito corresponde a generación (F2, F3); el segundo dígito, a la subfamilia (A, B, C). ^bAmbiente: mezcla de las tres subfamilias F2 en cada ambiente. ^cLR (Relación de probabilidad), donde : ns = LR no significativo, p (posible QTL) = LR ≥ 6, * = LR ≥ 9, ** = LR ≥ 11, *** = LR ≥ 14, **** = LR ≥ 20. a = efecto aditivo (si es positivo, el alelo del parental femenino aumenta el carácter, si es negativo lo disminuye). d = efecto dominante (si es positivo los alelos en heterocigosis aumentan el carácter, si es negativo, lo disminuyen). R² = coeficiente de determinación en %. ^dNombres de los QTLs. Se han sombreado las zonas en las que no hay segregación.

| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Pestot | | | Npan | | | Pespan | | | P100 | | | |
|-------------|----------------------|--|-----------------|------|-------|----------------|-----------------|-------|--------|----------------|-----------------|------|------|----------------|----|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | |
| Cromosoma 1 | RM1 | Pestot1.1 Npan1.1 | 2A | * | 6.27 | ** | 0.10 | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | | | | | | | | |
| | | | 2B | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | | | | | | | | | | | | |
| | RM294A-RM246 | Pestot1.2 Npan1.2 Pespan1.1 P100 1.1 | campo | 2A | ns | -3.08 | ns | -0.01 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 3A | *** | 9.55 | p | 0.18 | p | 0.32 | p | 0.19 | p | 0.30 | 19 |
| | | | | 2B | p | 7.30 | * | -0.02 | p | -0.02 | * | 0.12 | 1.14 | 36 | |
| | | | | 3B | ns | -3.96 | p | -0.07 | p | -0.07 | * | 0.15 | 0.24 | 14 | |
| | RM473A-RM486 | Pestot1.3 Npan1.3 Pespan1.2 | campo | 2C | ns | 7.85 | ns | 0.09 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 3C | **** | 4.76 | *** | 0.01 | ns | ns | ns | * | 0.19 | 0.09 | 10 |
| | | | | bais | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 2A | ns | 2.63 | p | 0.01 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Cromosoma 2 | RM486-RM165 | P100 1.2 | 3A | ** | 13.19 | p | 0.05 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2B | p | 1.03 | ** | 0.16 | ** | -0.18 | 0.87 | 24 | | | | |
| | | | 3B | ns | 11.70 | ns | 0.15 | ns | 0.36 | 0.15 | 8 | | | | |
| | | | 2C | ns | | p | -0.03 | p | -0.03 | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | RM174-RM438 | Pestot2.1 Npan2.1 | campo | 3C | ns | | ** | -0.07 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | bais | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 2A | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 3A | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | RM174-RM438 | Pestot2.1 Npan2.1 | campo | 2B | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| RM174-RM438 | Pestot2.1 Npan2.1 | campo | 2A | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| | | | 2B | * | 12.16 | * | 0.09 | * | -0.05 | 10 | | | | | |
| | | | 3B | p | -5.01 | * | -0.01 | * | -0.08 | 20 | | | | | |

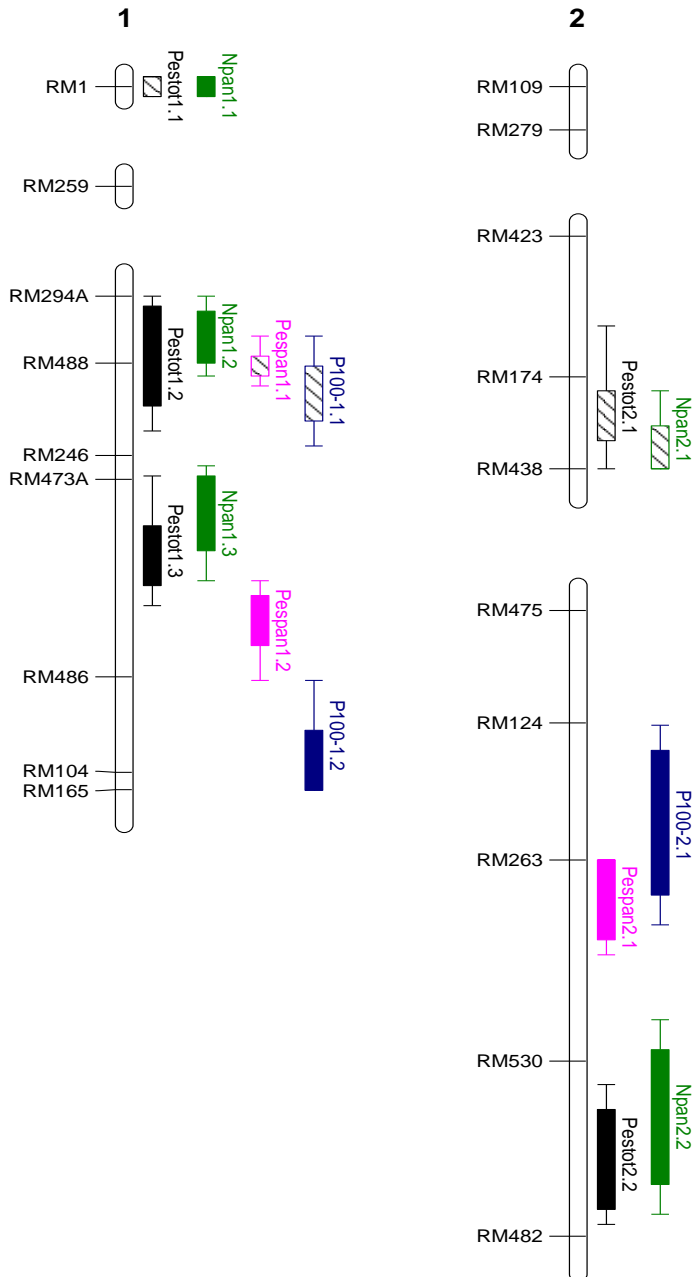
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Pestot | | | Npan | | | Pespan | | | P100 | | | | | | | |
|---------------------|---|--|-----------------|-------|------|----------------|-----------------|-------|--------|----------------|-----------------|-------|------|----------------|-------|-------|------|----|--|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | | | | |
| Cromosoma 2 (cont.) | RM124-RM630 | Pespan2.1 P100 2.1 | 2A | ns | | | ns | | | ns | | | *** | -0.16 | -0.07 | 12 | | | |
| | | | 3A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | ns | | | *** | -0.30 | 0.43 | 28 | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | RM630-RM482 | Pestot2.2 Npan2.2 | campo bals | 2A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 3A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 2B | ** | -8.69 | -8.09 | 35 | ** | -0.07 | -0.01 | 31 | ns | | | ns | | | |
| | | | | 3B | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | | | 2C | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | | | 3C | ns | | | ns | | | p | -0.04 | 0.02 | 8 | ns | | | ns | |
| Cromosoma 3 | RM473B-RM564 | Pestot3.1 Npan3.1 P100 3.1 | campo bals | 2A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 3A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 2B | * | -7.44 | -3.45 | 20 | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | | | 2C | ns | | | ns | | | *** | -0.09 | 0.02 | 35 | ns | | | ns | |
| | | | | 3C | p | -5.34 | -1.92 | 10 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | |
| | RM347-RM168 | Pestot3.2 Pespan3.1 | campo bals | 2A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 3A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 2B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | |
| | | | | 2C | * | 12.36 | -18.85 | 42 | ns | | | * | 0.28 | 0.27 | 18 | | | | |
| | | | | 3C | ns | | | ns | | | ns | | | | p | 0.23 | 0.42 | 10 | |
| RM422-RM514/RM148 | Pestot3.3 Npan3.2 Pespan3.2 P100 3.2 | campo bals | 2A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | ns | | | ** | -0.01 | -0.17 | 14 | ns | | | ns | | |
| | | | 3B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | |
| | | campo bals | ns | | | ns | | * | -0.04 | -0.05 | 11 | ns | | | ns | | | | |
| | | campo bals | ** | -3.75 | 1.66 | 21 | ** | -0.08 | 0.03 | 23 | ns | | | p | 0.08 | -0.24 | 12 | | |

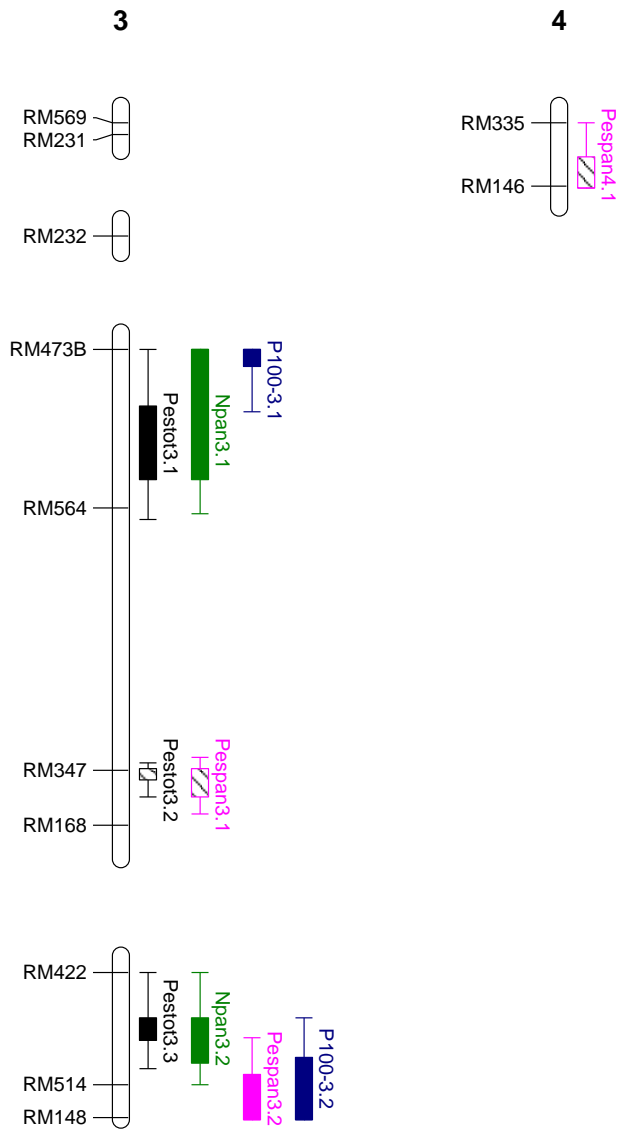
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Pestot | | Npan | | Pespan | | P100 | | | | | | |
|-------------|------------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-------|------|-------|----|--|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | | | | | |
| Cromosoma 4 | RM335-RM146 | Pespan4.1 | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | | | 2C | ns | | ns | | * | -0.52 | 0.01 | 14 | | | | |
| | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | | | | |
| | RM548-RM574 | Pespan5.1 | campo bals | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| | | | | 3A | p | -1.33 | 14.19 | 12 | p | -0.03 | 0.00 | 8 | | | |
| | | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ** | 0.15 | -0.34 | 14 | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | * | -8.67 | | | * | -0.10 | | | | | |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| Cromosoma 5 | RM87 | Pespan5.2 | campo bals | 2A | ns | | ns | | p | -0.04 | -0.03 | 9 | | | |
| | | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2B | **** | -16.75 | | | *** | -0.18 | | * | -0.35 | | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | RM162-RM295 | Pespan6.1 | campo bals | 2A | ns | | ns | | ns | | ns | | | | |
| | | | | 3A | ns | | ns | | ns | | p | 0.14 | 0.28 | 10 | |
| | | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | | p | 0.42 | 0.03 | 9 | |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ** | 0.34 | 0.20 | 19 | |
| Cromosoma 6 | RM295-RM400 | Pespan6.1 | campo bals | 2A | *** | 1.57 | -22.64 | 38 | *** | -0.05 | -0.24 | 32 | | | |
| | | | | 3A | *** | -4.37 | 8.15 | 23 | ** | -0.04 | 0.04 | 14 | | | |
| | | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | RM162-RM295 | Pespan6.1 | campo bals | 2A | p | 3.21 | -3.80 | 7 | ns | | ns | | | | |
| | | | | 3A | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3B | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 2C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |
| | | | | 3C | ns | | ns | | ns | | ns | | ns | | |

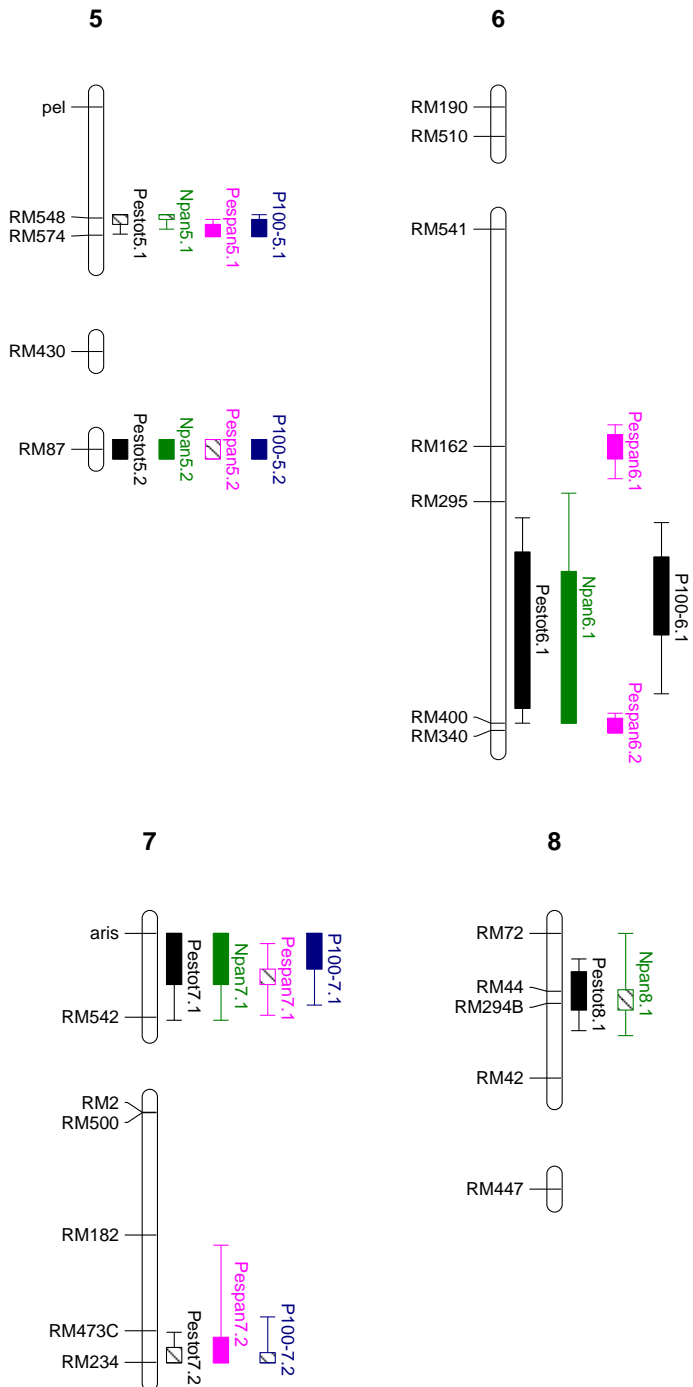
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Pestot | | | Npan | | | Pespan | | | P100 | | | | | | | | |
|----------------|------------------|--|---|-----|------|----------------|-----------------|----|--------|----------------|-----------------|-------|----|----------------|------|----|-----|------|------|----|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | | | | | |
| Crom 6 (cont.) | RM400-RM340 | Pespan6.2 | ns | | | | ns | | | p | 0.34 | -0.17 | 9 | ns | | | | | | |
| | | | ns | 2A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2B | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3B | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2C | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | Cromosoma 7 | aris-RM542 | Pestot7.1 Npan7.1 Pespan7.1 P100 7.1 | ns | | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | | | ns | 2A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | | ns | 3A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | | *** | 2B | -8.78 | 17.39 | 21 | *** | -0.06 | 0.17 | 16 | p | -0.23 | 0.72 | 19 | *** | 0.01 | 0.35 | 43 |
| | | | | ** | 3B | 2.95 | -11.33 | 23 | *** | 0.02 | -0.13 | 38 | ns | | | | | | | |
| | | | | | 2C | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | 3C | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 8 | RM44-RM294B | Pestot8.1 Npan8.1 | ns | | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | | |
| | | | ns | 2A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2B | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ** | 3B | 6.43 | -8.17 | 21 | * | 0.09 | -0.04 | 21 | ns | | | | | | | | |
| | | | | 2C | | | | | | | | ns | | | | | | | | |
| | RM215 | Pespan9.1 | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3A | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2B | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3B | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 2C | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | 3C | | | ns | | | ns | | | | | | | | | | |

| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Pestot | | Npan | | Pespan | | P100 | | | | | | |
|--------------|------------------|---|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-------|------|-------|-------|----|
| | | | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | LR ^c | a d R ² | | | | | |
| Cromosoma 10 | RM184-RM333 | Pestot10.1 Npan10.1 P100 10.1 | ns | | ns | 0.03 | ns | ns | **** | -0.19 | 0.02 | 15 | | | |
| | | | ns | | * | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | p | -2.44 | 8.49 | 12 | ns | | | | ns | | | | |
| | RM171-RM333 | Pestot10.2 Npan10.2 P100 10.2 | campo bals | ns | | ns | | | | | | | | | |
| | | | | ns | | | | | | | | | | | |
| | | | | * | 11.35 | | ** | 0.14 | ns | | | ns | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | ns | | | |
| | | | | ns | | | p | 0.04 | 0.15 | 13 | ns | | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | ns | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | ns | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | **** | -0.25 | -0.03 | 19 |
| | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| Cromosoma 11 | RM206-RM224 | Pespan11.1 | ns | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | ** | -0.42 | 0.20 | 21 | | |
| | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | RM260-RM309 | Pestot12.1 Npan12.1 Pespan12.1 P100 12.1 | campo bals | ns | | ns | | | | | | | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | | ** | -9.49 | 9.86 | 12 | ** | -0.09 | 0.13 | 16 | p | -0.23 | 0.51 | 14 |
| | | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| Cromosoma 12 | | campo bals | ns | | ns | | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |

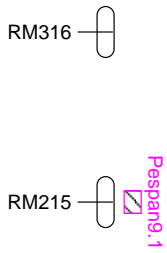
Figura 21. QTLs de los caracteres de producción: peso total de las panículas (*Pestot*), número de panículas (*Npan*), peso medio de la panícula (*Pespan*) y peso de 100 granos (*P100*), en la población MS. Las barras sólidas corresponden a $LR \geq 10$, y las rayadas a $LR \geq 8$; los brazos son el intervalo de confianza del QTL. Se han representado sólo con una línea los posibles QTLs ($LR \geq 6$).



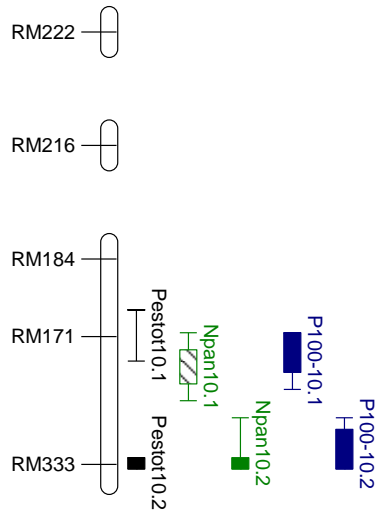




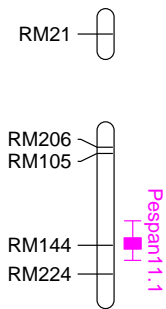
9



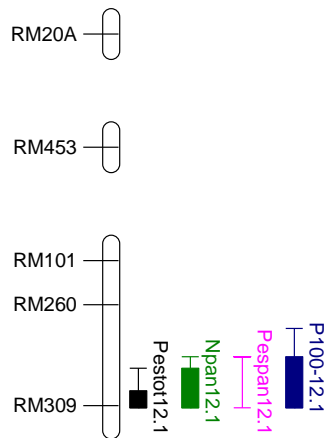
10



11



12



Diámetro, porte y doblado

En la tabla 21 se muestran los QTLs relacionados con el diámetro del tallo, porte (o hábito de crecimiento) y resistencia al doblado. En cuatro intervalos se han detectado QTLs que afectan, simultáneamente, al diámetro y a la resistencia al doblado, tres que afectan al porte y a la resistencia al doblado y siete que afectan al diámetro y al porte, aunque no siempre se manifiestan en las mismas subfamilias y/o ambientes.

En lo referente al diámetro, en la subfamilia A se han detectado seis QTLs que explican más del 24% de la variación fenotípica en F2 y del 31% en F3, y en la subfamilia B se han detectado once QTLs que determinan prácticamente la totalidad de la variación del diámetro en F2 y F3. Tres de estos QTLs detectados en la subfamilia A y tres de la subfamilia B coinciden con QTLs implicados en el porte, en tres de los cuales el alelo que aumenta el diámetro es el mismo que hace que la planta tenga un porte más abierto. Por otra parte, en la subfamilia C se han detectado siete QTLs responsables de más del 42% y del 59% de la variación en F2 y F3, respectivamente. En el cromosoma 7 se han detectado sendos QTLs de diámetro y resistencia al doblado, y en ambos se observa un mayor peso de la dominancia, siendo del mismo signo en ambos. En general, se observan efectos aditivos positivos en F2 y negativos en F3, aunque los efectos dominantes son mayores que los aditivos y esto puede justificar este cambio de signo. En cuanto a la comparación de los ambientes, se han detectado tres QTLs sólo en campo y uno sólo en balsetas, aunque las significaciones son bajas.

En cuanto al porte, en la subfamilia A se han detectado cinco QTLs que pueden explicar hasta el 83% de la variación fenotípica en F2; en F3 no se ha podido estimar R^2 ya que los QTLs fueron identificados en el análisis marcador a marcador, que no estima el coeficiente de determinación. En la subfamilia B se han hallado seis QTLs que describen más del 58% de la variación fenotípica en F2 y del 51% en F3. En la subfamilia C se han detectado tres QTLs que describen hasta el 52% de la variación total en F3, y en F2 no se ha podido estimar R^2 . En casi todos los QTLs encontrados, el alelo del parental femenino contribuye a un porte más abierto. Por otra parte, este carácter apenas se ve afectado por el ambiente, lo que corrobora las altas heredabilidades encontradas. En todos los

casos en los que existe coincidencia con otro QTL estructural, sucede con el diámetro del tallo, y siempre en el sentido indicado en el párrafo anterior.

Sólo se tienen datos fenotípicos de la resistencia al doblado en F3. Se han detectado dos QTLs en cada subfamilia pero no coinciden entre ellos. Los QTLs de las subfamilias A y B explican casi el 30% de la variación, mientras que los de la C explican hasta un 68%. Uno de los QTLs de la subfamilia B coincide con un QTL identificado para el porte, y en ambos caracteres el alelo materno tiene efectos aditivos positivos, es decir, las plantas con un porte más abierto tienen mayor resistencia al doblado. Se han detectado pocos QTLs de resistencia al doblado, y de los identificados, no hay muchas coincidencias con los caracteres estructurales evaluados en este estudio.

Maduración

En la tabla 22 se muestran los QTLs de maduración. Por subfamilias se puede destacar que en la A se han detectado ocho QTLs que explican alrededor del 50% de la variación en F2 y F3. La mayor parte de los efectos son pequeños y, generalmente, son más notables en F2; además, en algunos casos el efecto dominante es considerable. En la subfamilia B hay cinco QTLs que explican el 43% y 47% de la variación fenotípica en F2 y F3, respectivamente. Sus efectos son bastante grandes, pero sólo en una de las dos generaciones. En la subfamilia C se han detectado siete QTLs con efectos notables que determinan más del 40% de la variación fenotípica en F2 y del 63% en F3. En seis de los intervalos se detectan QTLs en al menos dos subfamilias, y en todos los casos (excepto en el cromosoma 5) el efecto aditivo es el mismo en las distintas subfamilias. Los QTLs ponen de manifiesto una cierta influencia del ambiente sobre este carácter, pues en cuatro de ellos QTLs el efecto es muy inferior en balsetas (o incluso indetectable), mientras que otro no se detecta en campo.

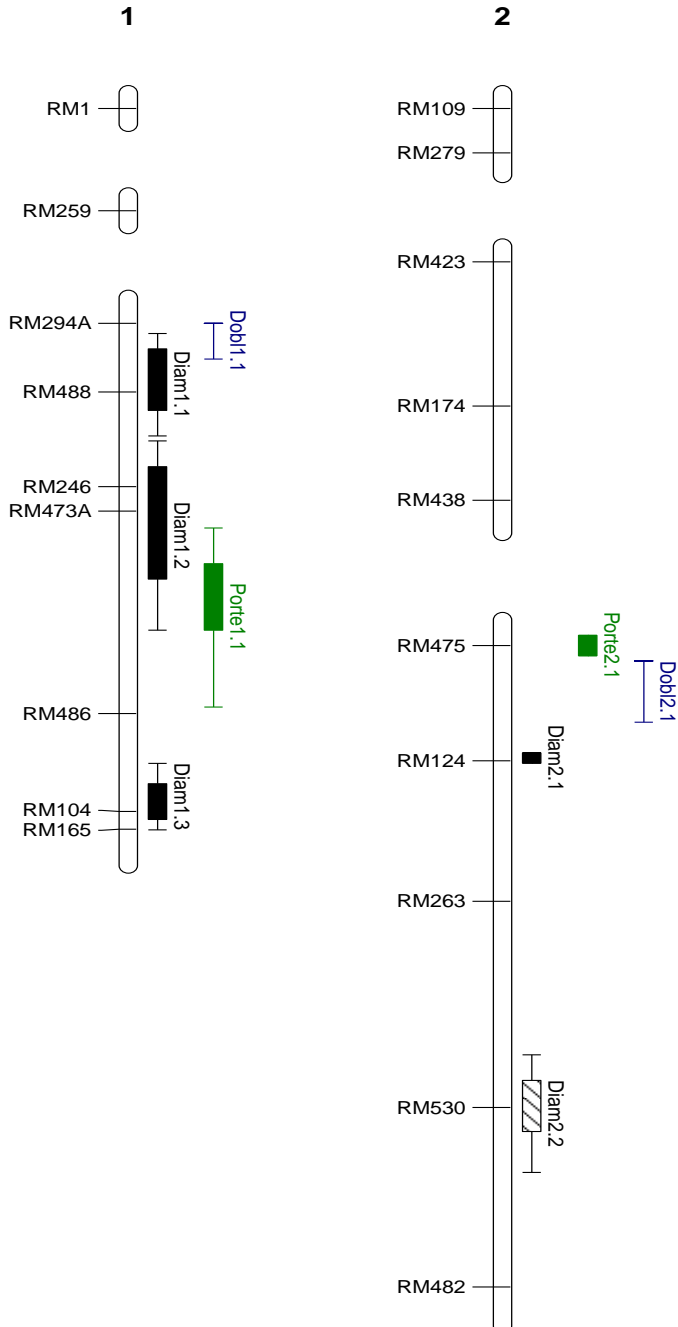
Tabla 21. QTLs del diámetro del tallo (Diam), porte de la planta (Porte) y resistencia al doblado (Dobl), en la población MS. ^aGrupo analizado: el primer dígito corresponde a generación (F2, F3); el segundo dígito, a la subfamilia (A, B, C). DoblT sólo se ha analizado en F3. ^bAmbiente: mezcla de las tres subfamilias F2 en cada ambiente. ^cLR (Relación de probabilidad), donde : ns = LR no significativo, p (posible QTL) = LR ≥ 6, * = LR ≥ 9, ** = LR ≥ 11, *** = LR ≥ 14, **** = LR ≥ 20. a = efecto aditivo (si es positivo, el alelo del parental femenino aumenta el carácter, si es negativo lo disminuye). d = efecto dominante (si es positivo los alelos en heterocigosis aumentan el carácter, si es negativo, lo disminuyen). R² = coeficiente de determinación en %. ^dNombres de los QTLs. Se han sombreado las zonas en las que no hay segregación.

| | Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a | | | | Diam | | | | Porte | | | | Dobl | | | | |
|-------------|--------------|------------------|-----------------------|--------|--------|--------|-----------------|----|------|----------------|-----------------|---|----|----------------|-----------------|-------|-------|----------------|--|
| | | | ambiente ^b | | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | |
| Cromosoma 1 | RM294A-RM246 | Diam1.1 | 2A | ns | | | | ns | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | ns | | | | | | | | | | | |
| | | Dobl1.1 | 2B | ** | 0.048 | 0.057 | 24 | | | | | | | | p | 0.013 | 0.05 | 11 | |
| | | | 3B | ** | -0.045 | -0.122 | 22 | | | | | | | | ns | | | | |
| | | 2C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | | 3C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | campo | | | p | 0.016 | 0.037 | 11 | | | | | | | ns | | | | | |
| | bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | |
| | RM488-RM486 | Diam1.2 | 2A | ns | | | | * | 0.13 | 0.78 | 22 | | | | | | | | |
| | | | 3A | ** | -0.034 | 0.077 | 14 | | | | | | | | p | 0.12 | 0.35 | 6 | |
| | | Porte1.1 | 2B | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | 2C | p | 0.017 | 0.054 | 10 | | | | | | | | ns | | | | | |
| | | 3C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | campo | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | |
| bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | | |
| RM486-RM165 | Diam1.3 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3A | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | 2B | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | | |
| | 3B | ** | 0.051 | 0.112 | 23 | | | | | | | | ns | | | | | | |
| | 2C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | | |
| | 3C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | | |
| campo | | | * | -0.031 | -0.021 | 12 | | | | | | | ns | | | | | | |
| bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | | |
| Cromosoma 2 | RM475-RM124 | Diam2.1 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Porte2.1 | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | * | 0.060 | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | 2C | ns | | | | | | | | | | | ** | 0.71 | | | | |
| | | 3C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | campo | | | ** | -0.039 | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | |
| | RM263-RM482 | Diam2.2 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3B | * | 0.062 | -0.072 | 17 | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | 3C | p | 0.037 | -0.015 | 10 | | | | | | | | | ns | | | | |
| | campo | | | ns | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | | |
| Cromosoma 3 | RM569-RM231 | Diam3.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Porte3.1 | 2B | p | -0.005 | -0.054 | 11 | | | | | | | | ns | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | p | 0.14 | 0.51 | 12 | |
| | | Dobl3.1 | 2C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | |
| | campo | | | ns | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | bals | | | ns | | | | ns | | | | | | ns | | | | | |
| | RM473B-RM564 | Diam3.2 | 2A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Porte3.2 | 2B | ns | | | | | | | | | | | p | 0.35 | -0.26 | 12 | |
| | | | 3B | p | 0.077 | 0.122 | 11 | | | | | | | * | -0.28 | -0.98 | 32 | | |
| | | 2C | ns | | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| | | 3C | *** | 0.094 | -0.010 | 26 | | | | | | | | ns | | | | | |
| | campo | | | ns | | | | | | | | | | ns | | | | | |
| bals | | | p | -0.022 | -0.038 | 16 | | | | | | | ns | | | | | | |

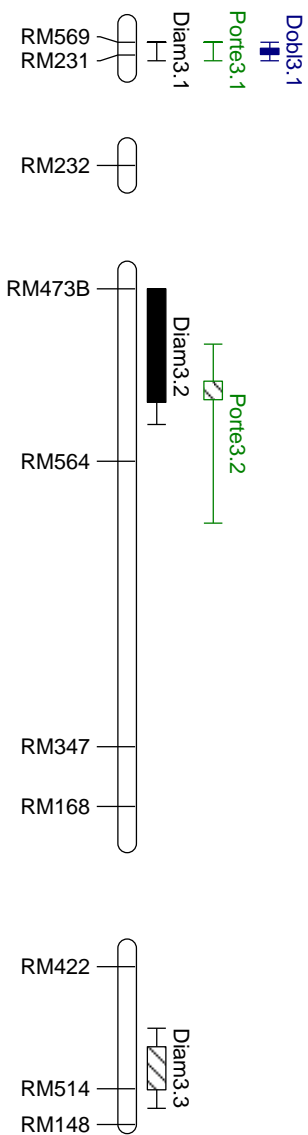
| | Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a | | Diam | | | | Porte | | | | Dobl | | | | | | | |
|----------------|--------------------|---------------------|-----------------------|-----------------|--------|--------|----------------|-----------------|-------|------|----------------|-----------------|------|---|----------------|----|-------|--------|----|--|
| | | | ambiente ^b | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | | | | |
| Crom 3 (cont.) | RM422-RM514/RM148 | Diam3.3 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | * | 0.042 | 0.106 | 17 | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | p | 0.037 | -0.009 | 11 | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 4 | RM335-RM146 | Diam4.1 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ** | 0.050 | 0.080 | 22 | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 5 | RM430 | Porte5.1 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | * | 0.41 | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 6 | RM190-RM510 | Diam6.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ** | -0.053 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | RM541-RM295 | Diam6.2 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | p | 0.025 | -0.041 | 13 | ns | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2C | | | ** | 0.056 | -0.044 | 21 | ns | | | | | | | | | | | | | |
| 3C | | | p | 0.043 | -0.012 | 10 | ns | | | | | | | | | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 7 | RM295-RM340 | Diam6.3 Porte6.1 | 2A | *** | 0.025 | -0.090 | 24 | **** | 0.18 | 1.22 | 50 | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | |
| | aris-RM542 | Diam7.1 Porte7.1 | 2A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | * | 0.29 | | | | | | | | | |
| | | | 2B | p | 0.004 | 0.088 | 34 | ** | 0.58 | 0.19 | 28 | | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RM2-RM473C | Diam7.2 Dobl7.1 | 2A | p | 0.036 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3A | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2B | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3B | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2C | ns | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3C | p | -0.018 | -0.083 | 13 | ns | | | | | | | | | ** | 0.029 | -0.134 | 41 | |
| | | | campo | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | Diam | | | | Porte | | | | Dobl | | | | |
|--------------|-------------|---------------------|--|-----------------|--------|-------|----------------|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|--------|-------|----------------|--------|
| | | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | |
| Cromosoma 8 | RM72-RM44 | Dobl8.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | ns | | | | *** | -0.150 | -0.42 | 28 | |
| | | | 2C | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 8 | RM294B-RM42 | Diam8.1 Porte8.1 | 2A | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3A | * | -0.054 | | | *** | 0.53 | | | | | | ns | |
| | | | 2B | ns | | | | p | 0.34 | 0.00 | 6 | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | p | 0.21 | 0.36 | 10 | | | | ns | |
| | | | 2C | ns | | | | * | 0.52 | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| Cromosoma 9 | RM316 | Diam9.1 | 2A | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3A | ** | -0.073 | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2B | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2C | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| Cromosoma 9 | RM215 | Diam9.2 | 2A | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2B | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3B | * | 0.089 | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2C | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| Cromosoma 10 | RM171-RM333 | Porte10.1 | 2A | ns | | | | p | 0.45 | -0.11 | 11 | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | ns | | | | | | ns | | |
| | | | 2B | ns | | | | * | -0.58 | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | ns | | | | | | ns | | |
| | | | 2C | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | | | | | ns | | |
| Cromosoma 11 | RM206-RM105 | Dobl11.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2C | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | ns | | | | | | | ** | -0.086 |
| Cromosoma 11 | RM105-RM144 | Porte11.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | p | 0.15 | 0.55 | 12 | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | p | 0.01 | 0.48 | 9 | | | | ns | |
| | | | 2C | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | 3C | ns | | | | *** | -0.49 | 1.05 | 52 | | | | ns | |
| Cromosoma 12 | RM260-RM309 | Diam12.1 | 2A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3A | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 2B | *** | -0.013 | 0.086 | 33 | ns | | | | | | | | |
| | | | 3B | ns | | | | ns | | | | | | | ns | |
| | | | 2C | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3C | | | | | | | | | | | | | |
| Cromosoma 12 | | | campo | | | | | | | | | | | | | |
| | | | bals | | | | | | | | | | | | | |

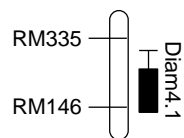
Figura 22. QTLs del diámetro del tallo (Diam), porte de la planta (Porte) y resistencia al doblado (Dobl), en la población MS. Las barras sólidas corresponden a $LR \geq 10$, y las rayadas a $LR \geq 8$; los brazos son el intervalo de confianza del QTL. Se han representado con una sola línea los posibles QTLs ($LR \geq 6$).

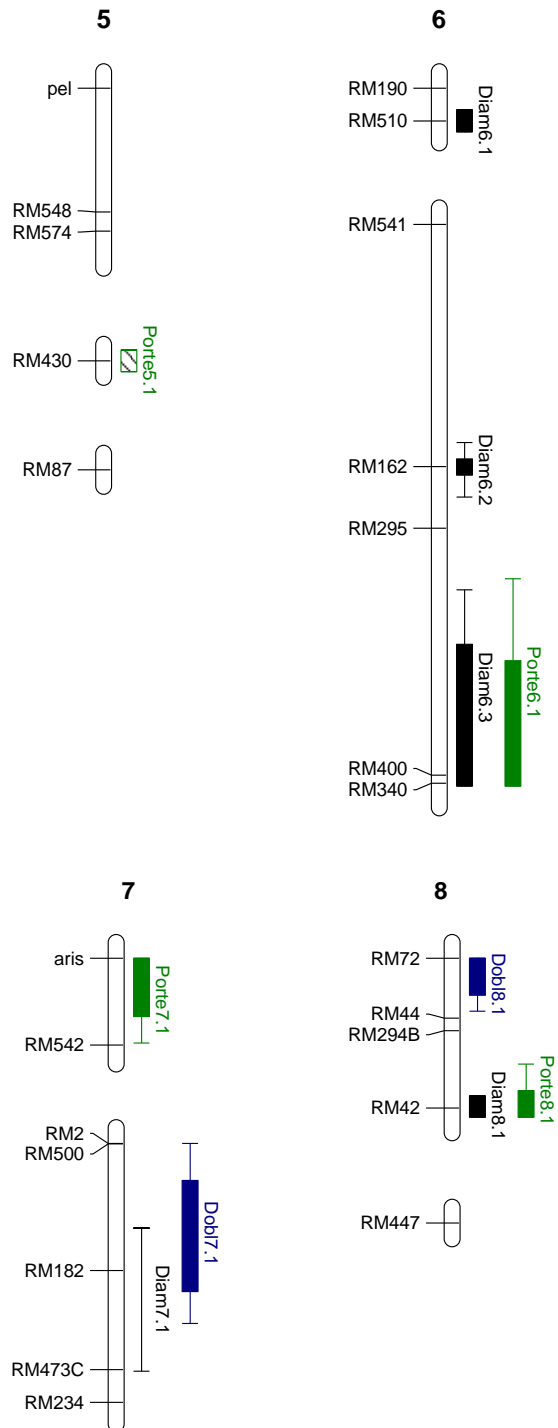


3

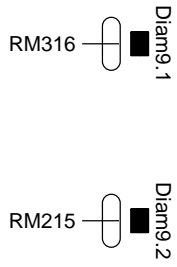


4

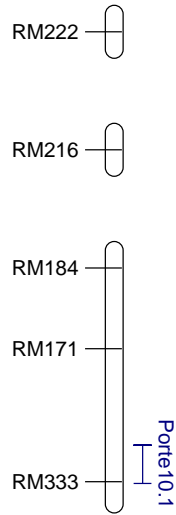




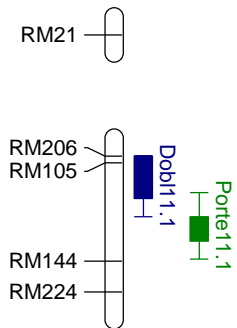
9



10



11



12

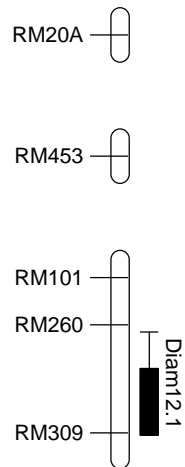
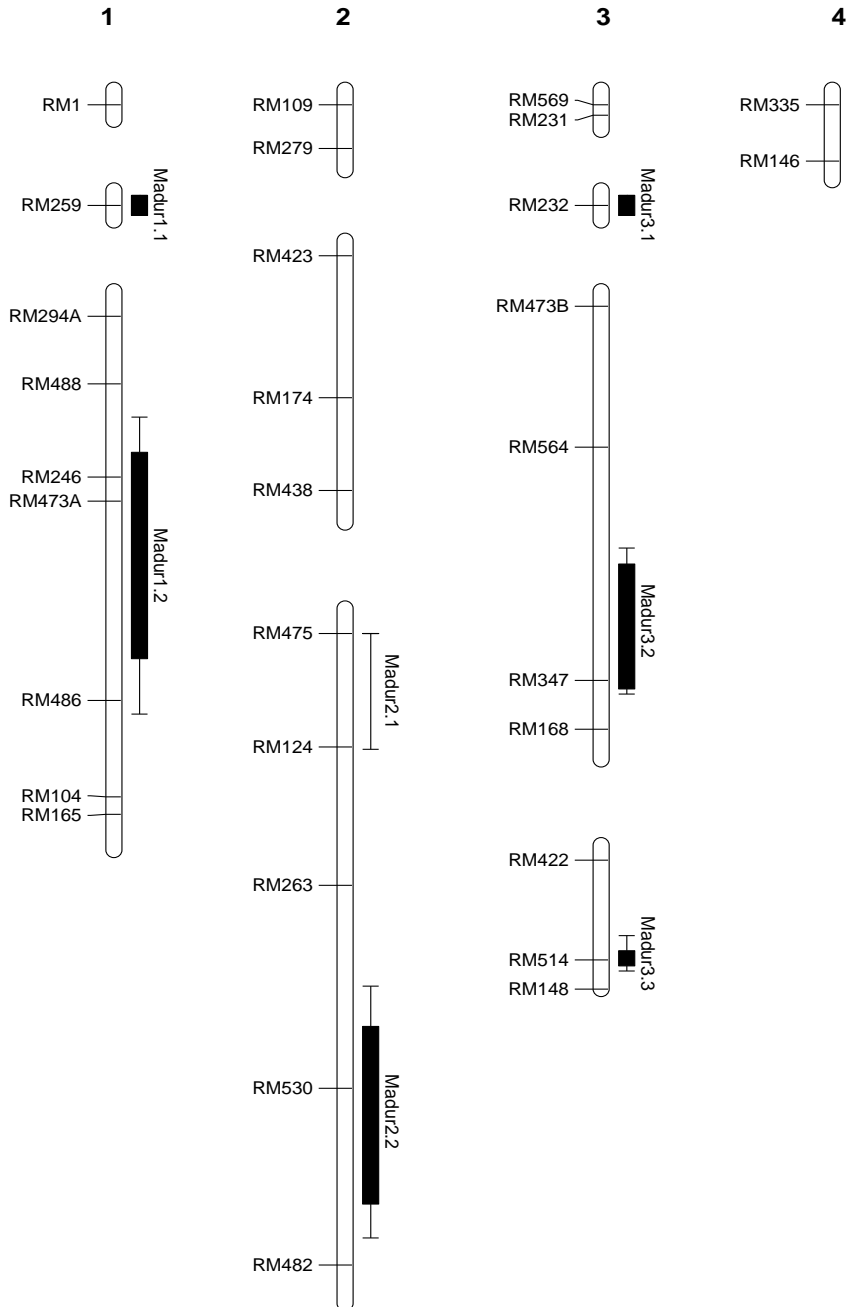
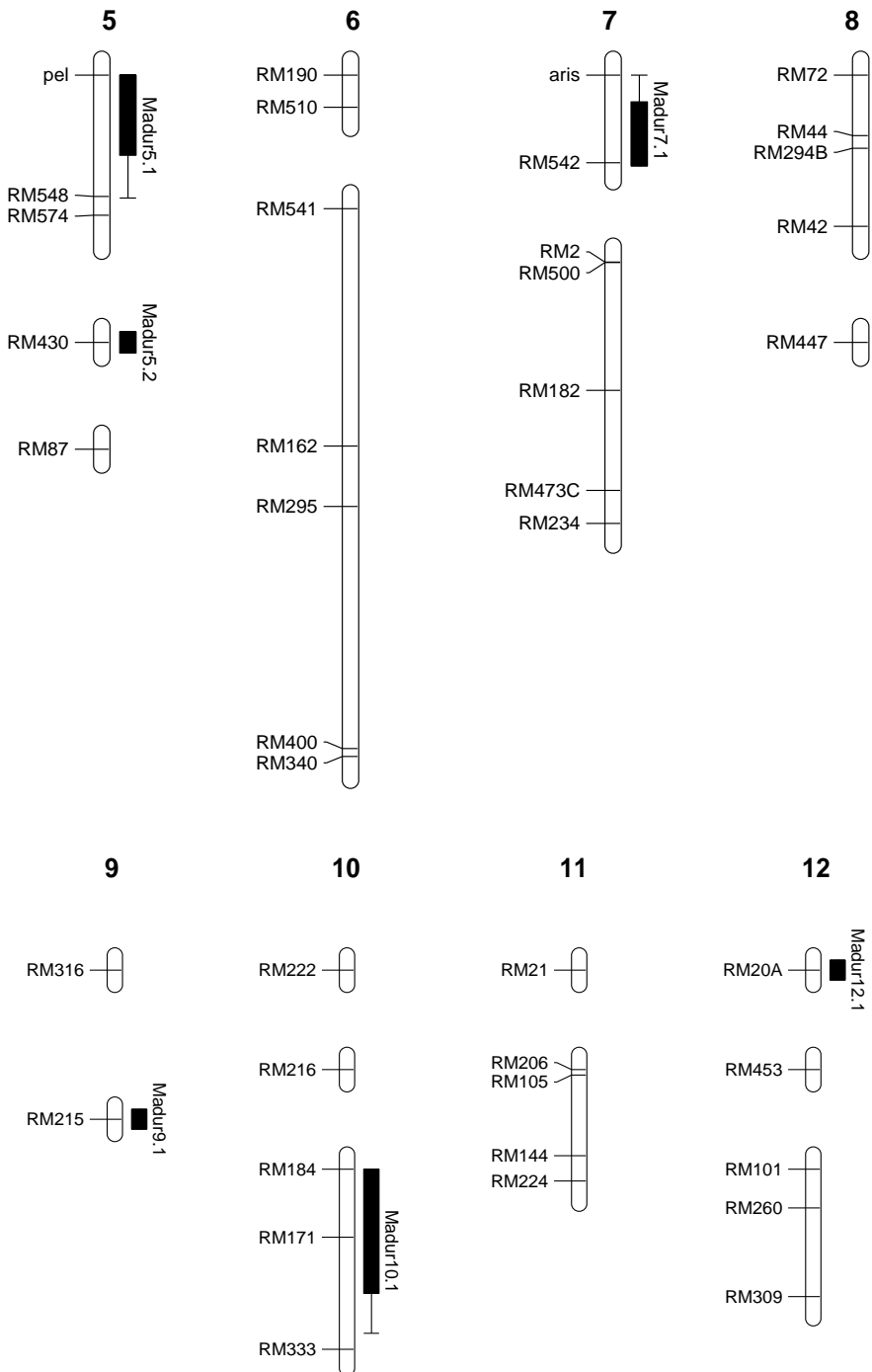


Tabla 22. QTLs de maduración (*Madur*) en la población MS. ^aGrupo analizado: el primer dígito corresponde a generación (F2, F3); el segundo dígito, a la subfamilia (A, B, C). ^bAmbiente: mezcla de las tres subfamilias F2 en cada ambiente. ^cLR (Relación de probabilidad), donde : ns = LR no significativo, p (posible QTL) = LR ≥ 6, * = LR ≥ 9, ** = LR ≥ 11, *** = LR ≥ 14, **** = LR ≥ 20. a = efecto aditivo (si es positivo, el alelo del parental femenino aumenta el carácter, si es negativo lo disminuye). d = efecto dominante (si es positivo los alelos en heterocigosis aumentan el carácter, si es negativo, lo disminuyen). R² = coeficiente de determinación en %. ^dNombres de los QTLs. Se han sombreado las zonas en las que no hay segregación.

| | Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a | | Madur | | | | Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a | | Madur | | | |
|-------------|-------------|------------------|-----------------------|-----|-----------------|-------|-------|----------------|-------------|------------------|-----------------------|-------|-----------------|------|----|----------------|
| | | | ambiente ^b | | LR ^c | a | d | R ² | | | ambiente ^b | | LR ^c | a | d | R ² |
| Cromosoma 1 | RM259 | Madur1.1 | 2A | ns | | | | | RM548-RM574 | Madur5.1 | 2A | ns | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | 3A | | | p | -0.23 | -2.87 | 10 | | |
| | | | 2B | ns | | | | 2B | | | *** | 1.99 | -2.94 | 27 | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | 3B | ns | | | | | |
| | | | | 2C | * | -2.49 | | | | | 2C | | | | | |
| | | | | 3C | ** | -2.87 | | | | | 3C | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | campo | ns | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | ns | | | | | |
| | RM488-RM104 | Madur1.2 | 2A | ns | | | | RM430 | Madur5.2 | 2A | ns | | | | | |
| 3A | | | ns | | | | 3A | | | ns | | | | | | |
| 2B | | | ns | | | | 2B | | | ns | | | | | | |
| | | | 3B | ** | 2.12 | -1.79 | 18 | | | 3B | ns | | | | | |
| | | | 2C | ns | | | | | | 2C | ns | | | | | |
| | | | 3C | ** | 3.73 | -0.22 | 23 | | | 3C | * | 2.37 | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | campo | ns | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | * | 1.67 | | | | |
| Cromosoma 2 | RM475-RM124 | Madur2.1 | 2A | p | 2.92 | -1.44 | 12 | RM190-RM510 | Madur6.1 | 2A | | | | | | |
| | | | 3A | p | 1.82 | 0.70 | 10 | | | 3A | | | | | | |
| | | | 2B | | | | | | | 2B | ** | -2.93 | -2.50 | 23 | | |
| | | | | 3B | | | | | | 3B | ns | | | | | |
| | | | | 2C | ns | | | | | | 2C | ns | | | | |
| | | | | 3C | ns | | | | | | 3C | ns | | | | |
| | | | campo | * | 1.67 | | | | | campo | * | 1.76 | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | ns | | | | | |
| Cromosoma 2 | RM263-RM482 | Madur2.2 | 2A | ** | 1.24 | 3.89 | 13 | aris-RM542 | Madur7.1 | 2A | * | 1.98 | | | | |
| | | | 3A | p | 0.10 | -3.09 | 12 | | | 3A | * | 1.71 | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | 2B | ns | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | 3B | *** | 3.35 | -2.40 | 29 | | |
| | | | | 2C | p | 2.13 | 2.02 | 10 | | | 2C | | | | | |
| | | | | 3C | ns | | | | | | 3C | | | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | campo | * | 1.76 | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | ns | | | | | |
| Cromosoma 3 | RM232 | Madur3.1 | 2A | ** | 2.63 | | | RM215 | Madur9.1 | 2A | ns | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | 3A | ns | | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | 2B | ns | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | 3B | ns | | | | | |
| | | | | 2C | ns | | | | | | 2C | ns | | | | |
| | | | | 3C | ns | | | | | | 3C | * | -2.53 | | | |
| | | | campo | ns | | | | | | campo | ns | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | ns | | | | | |
| Cromosoma 3 | RM564-RM168 | Madur3.2 | 2A | p | -2.29 | -0.48 | 9 | RM184-RM333 | Madur10.1 | 2A | * | -2.36 | 2.55 | 14 | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | 3A | ns | | | | | |
| | | | 2B | * | -2.35 | 0.11 | 17 | | | 2B | | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | 3B | | | | | | |
| | | | | 2C | ns | | | | | | 2C | *** | -4.39 | 0.68 | 30 | |
| | | | | 3C | p | 1.30 | -3.24 | 11 | | | 3C | *** | -4.47 | 0.82 | 29 | |
| | | | campo | *** | -2.34 | -0.71 | 18 | | | campo | p | -1.03 | -1.11 | 5 | | |
| | | | bals | p | -2.50 | -2.32 | 15 | | | bals | p | -2.66 | 0.33 | 12 | | |
| Cromosoma 3 | RM422-RM514 | Madur3.3 | 2A | ns | | | | RM20A | Madur12.1 | 2A | ns | | | | | |
| | | | 3A | ns | | | | | | 3A | * | 1.70 | | | | |
| | | | 2B | ns | | | | | | 2B | | | | | | |
| | | | | 3B | ns | | | | | 3B | | | | | | |
| | | | | 2C | | | | | | | 2C | | | | | |
| | | | | 3C | | | | | | | 3C | | | | | |
| | | | campo | ** | 2.14 | -0.29 | 15 | | | campo | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | | | bals | | | | | | |

Figura 23. QTLs de maduración en la población MS. Las barras sólidas corresponden a $LR \geq 10$, y las rayadas a $LR \geq 8$; los brazos son el intervalo de confianza del QTL. Se han representado con una sola línea los posibles QTLs ($LR \geq 6$).





Dimensiones y perlado del grano

En la tabla 23 se muestran los QTLs detectados para las dimensiones del grano, así como los parámetros de perlado: porcentaje y tamaño medio de la perla. Respecto a las dimensiones, se han considerado la longitud del grano (L), la anchura de éstos (A), y la relación entre ellas (L/A). Estos caracteres sólo se han analizado en F2.

De los doce QTLs detectados al estudiar L/A sólo dos no coinciden con intervalos significativos implicados en el control de L o A. La longitud del grano aparece controlada por cinco QTLs en la subfamilia A, y cuatro en la B y en la C, que describen gran parte de la variación fenotípica. Dos de ellos coinciden en al menos dos de las subfamilias. En general, el alelo materno acorta el grano, aunque los efectos dominantes no son desdeñables. Los efectos son más notables en las balsetas (dos QTLs tienen mayor significación que en campo, y tres sólo se detectan en balsetas).

Respecto a la anchura del grano, en la subfamilia A se han detectado tres QTLs, en la B ocho y en la C dos, que determinan el 63, 100 y 29% de la variación fenotípica, respectivamente. Tres de esos QTLs se detectan en al menos dos de las subfamilias. En lo referente a los efectos ambientales, encontramos algunos: en dos intervalos, el efecto sólo se manifiesta en campo, pero es de baja significación; y en otro el efecto aditivo tiene, incluso, signos opuestos según el ambiente. Encontramos algunas zonas de especial interés para la determinación de las dimensiones del grano, en las que los QTLs se detectan de forma estable en los diferentes genotipos y ambientes, y con efectos altamente significativos. Destacan dos intervalos en el cromosoma 3, de los que depende substancialmente la longitud y la relación L/A del grano, y otros dos, en los cromosomas 1 y 5, con un importante peso sobre la anchura (y, a su vez, sobre la relación L/A).

Respecto a las características de perlado, se observa que bastantes de los QTLs encontrados afectan simultáneamente, y de manera paralela, tanto al porcentaje como al tamaño medio de la perla. Es decir, un mayor porcentaje de granos perlados corresponde una perla de mayor tamaño; pero encontramos dos casos en el cromosoma 3 en que esta relación es la opuesta en una de las subfamilias; en ambos casos, se observa un efecto dominante muy importante. En

la subfamilia A se han encontrado cinco QTLs que controlan el tamaño medio de la perla, de los que cuatro intervienen también en el porcentaje de perlado, explicando el 70 y el 54% de la variación de estos dos caracteres, respectivamente. En la subfamilia B se han detectado ocho QTLs para el porcentaje de perlado y seis para el tamaño de perla, siendo cuatro comunes en ambos; estos QTLs explican prácticamente toda la variación fenotípica. En la subfamilia C se han detectado cinco QTLs para cada carácter, tres de los cuales afectan a ambos, explicando más del 71% de la variación del porcentaje del perlado y del 84% del tamaño de perla. Inesperadamente, encontramos efectos ambientales muy importantes sobre el perlado: la mayoría de los QTLs se detectan, con bastante significación, en sólo uno de los ambientes; y en algunos casos, el QTL se detecta en campo para un carácter, y en balsetas para el otro.

Finalmente, cabe destacar que se han detectado seis intervalos en los que hay QTLs que afectan simultáneamente a las dimensiones de grano y al perlado, aunque no siempre se manifiestan en las mismas subfamilias y/o ambientes.

Tabla 23. QTLs de dimensiones y perlado del grano: longitud (L), anchura (A), relación longitud anchura (L/A), porcentaje de granos perlados (Perl) y tamaño medio de la perla (TmP), en la población MS. ^aAnálisis por subfamilia (A, B, C). ^bAmbiente: mezcla de las tres subfamilias F2 en cada ambiente. ^cLR (Relación de probabilidad), donde: ns = LR no significativo, p (posible QTL) = LR ≥ 6, * = LR ≥ 9, ** = LR ≥ 11, *** = LR ≥ 14, **** = LR ≥ 20. a = efecto aditivo (si es positivo, el alelo del parental femenino aumenta el carácter, si es negativo lo disminuye). d = efecto dominante (si es positivo los alelos en heterocigosis aumentan el carácter, si es negativo, lo disminuyen). R² = coeficiente de determinación en %. ^dNombres de los QTLs. Se han sombreado las zonas en las que no hay segregación.

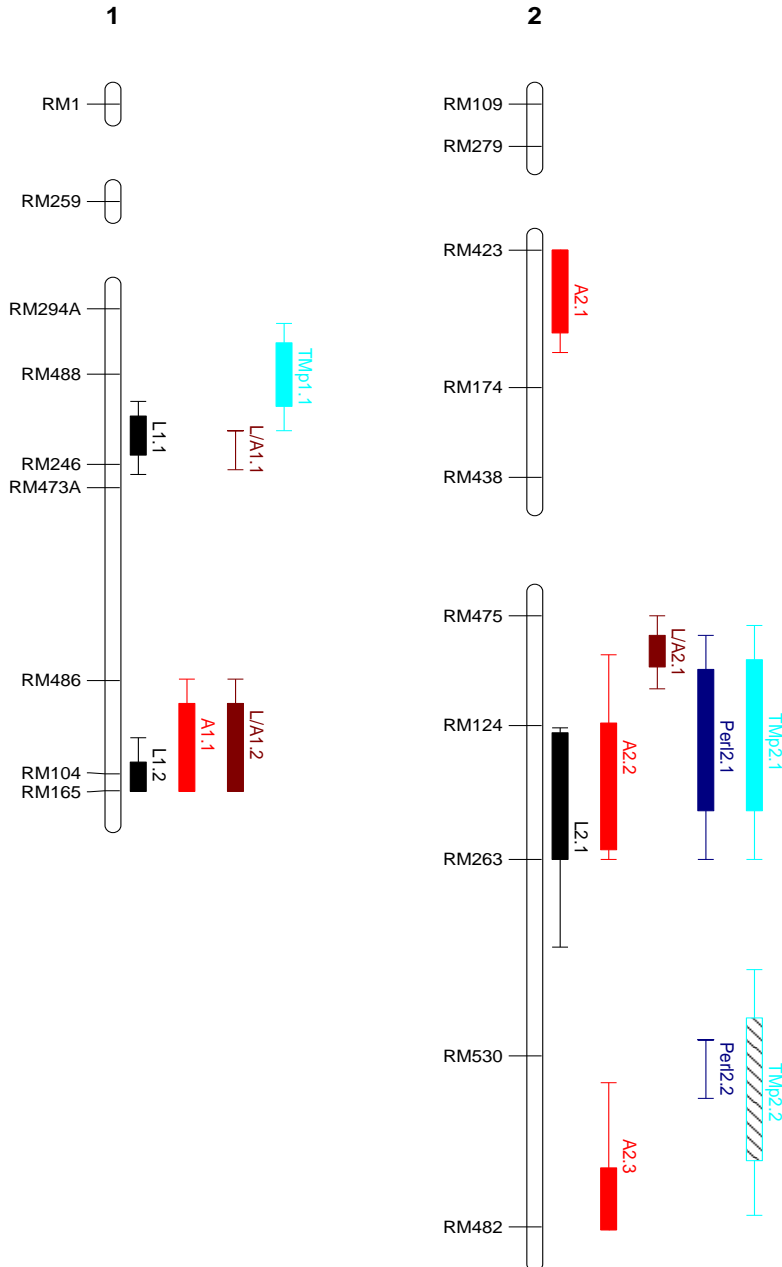
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | L | | | A | | | L/A | | | Perl | | | TmP | | | | |
|-------------|------------------|--|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|-------|--------|----------------|-----------------|-----|------|----------------|----|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | |
| Cromosoma 1 | RM294A-RM246 | TmP1.1 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | | | B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | *** | 0.18 | 0.52 | 42 |
| | | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | | campo | ns | | | ns | | | ns | | | | p | -0.07 | 0.21 | 8 | | | |
| | | | bais | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | RM488-RM473A | L1.1 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | | | B | **** | 0.07 | 0.37 | 59 | ns | | | p | 0.01 | 0.06 | 10 | ns | | | | |
| | | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | |
| | | campo | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | ns | | | |
| | | | bais | ns | | | ns | | | p | 0.02 | 0.05 | 9 | ns | | | ns | | |
| | | | | ns | | | ns | | | p | 0.04 | -0.03 | 6 | ns | | | ns | | |
| RM486-RM104 | L1.2 | A | ** | -0.11 | -0.01 | 11 | **** | -0.09 | 0.04 | 16 | ns | | | ns | | | | | |
| | | B | ns | | | ns | **** | -0.07 | 0.09 | 29 | p | 0.01 | -0.06 | 11 | ns | | | | |
| | | C | ns | | | ns | p | -0.05 | -0.09 | 12 | *** | 0.05 | -0.04 | 20 | ns | | | | |
| | campo | ns | | | ns | *** | -0.08 | 0.08 | 20 | **** | 0.03 | -0.07 | 13 | ns | | | | | |
| | | bais | ns | | | ns | **** | -0.08 | 0.02 | 22 | p | 0.03 | -0.02 | 6 | ns | | | | |
| | | | ns | | | ns | *** | 0.04 | -0.10 | 28 | ns | | | ns | | | | | |
| Cromosoma 2 | RM423-RM174 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | campo | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | ns | | | | |
| | | bais | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| RM475-RM124 | L/A2.1 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ** | -0.01 | -0.07 | 10 | ns | | | |
| | | B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | campo | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | ns | | | | |
| | | bais | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| RM475-RM263 | Perl2.1 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | B | ns | | | ns | | | ns | | | *** | -10.65 | 7.31 | 21 | ns | | | |
| | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | campo | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | ns | | | | |
| | | bais | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | |

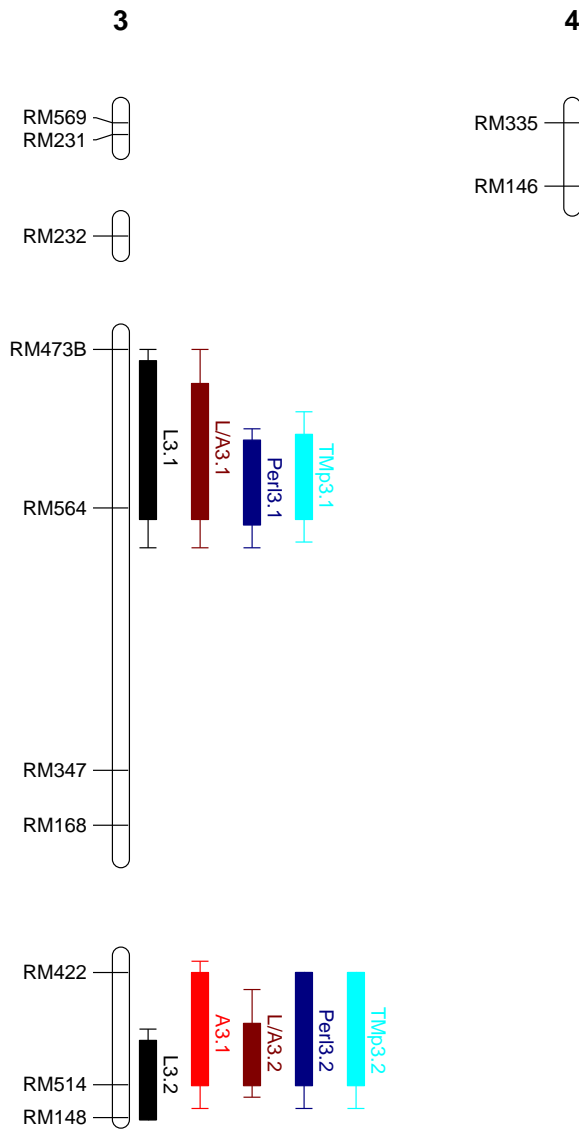
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | L | | | A | | | L/A | | | Perl | | | TMp | | | | |
|---------------------|-------------------|--|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|--------|--------|----------------|-----------------|------|-------|----------------|----|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | |
| Cromosoma 2 (cont.) | RM124-RM530 | L2.1 | **** | -0.15 | 0.13 | 29 | ** | -0.07 | 0.02 | 11 | ns | | | | | | | | |
| | | A | ns | | | | p | -0.04 | 0.03 | 9 | ns | | | | | | | | |
| | | B | ns | | | | | | | | ns | | | | | | | | |
| | RM263-RM482 | campo | C | ns | | | * | -0.07 | | | ns | | | | | | | | |
| | | | bals | * | -0.15 | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | Perl2.2 | A | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | C | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| campo | A | ns | | | | ns | | | | p | 3.30 | 10.03 | 9 | ns | | | | | |
| | B | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | | | |
| | C | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | | | |
| Cromosoma 3 | RM530-RM482 | campo | bals | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | A | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | * | 0.06 | -0.06 | 17 | ns | | | | | | | |
| | RM473B-RM347 | campo | C | ns | | | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | L3.1 | A | ns | | | | ns | | | | p | 2.05 | 10.26 | 10 | ** | 0.09 | 0.33 | 17 |
| | | | B | * | -0.31 | -0.27 | 35 | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | C | **** | -0.32 | -0.03 | 52 | ns | | | | **** | 9.56 | 2.04 | 15 | ns | | | |
| Cromosoma 5 | RM422-RM514/RM148 | campo | bals | ** | -0.06 | 0.14 | 17 | ns | | | * | 3.02 | 9.36 | 11 | ns | | | | |
| | | | A | **** | -0.21 | -0.05 | 26 | ns | | | | **** | -3.02 | 9.36 | 11 | ns | | | |
| | | | B | **** | 0.17 | 0.11 | 23 | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | perl-RM574 | campo | C | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | L3.2 | A | ns | | | | ns | | | | p | -11.75 | -8.75 | 32 | p | -0.18 | -0.18 | 12 |
| | | | B | ns | | | | **** | -0.07 | -0.06 | 32 | ** | 0.06 | 0.00 | 26 | **** | 0.19 | -0.54 | 51 |
| | | | C | **** | 0.17 | -0.12 | 23 | ns | | | | p | -0.31 | -16.27 | 24 | ns | | | |
| Perl3.2 | A | ** | 0.11 | 0.06 | 13 | ns | | | | p | -4.30 | -0.38 | 3 | ns | | | | | |
| | B | *** | 0.13 | -0.14 | 19 | ns | | | | p | -3.54 | -16.46 | 24 | ns | | | | | |
| | C | *** | -0.12 | 0.04 | 16 | ns | | | | **** | 7.98 | 6.26 | 15 | *** | 0.24 | 0.16 | 18 | | |
| Cromosoma 5 | perl-RM574 | campo | bals | ns | | | ** | 0.06 | 0.02 | 20 | ns | | | | | | | | |
| | | | A | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | RM430 | campo | C | ns | | | *** | 0.08 | -0.03 | 16 | ** | -0.05 | 0.02 | 12 | ns | | | | |
| | | | bals | ns | | | | *** | 0.05 | -0.01 | 14 | ** | -0.04 | -0.01 | 13 | p | 4.53 | 4.73 | 7 |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | L/A5.2 | A | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | ns | | | | * | 0.03 | | | ns | | | |
| | | | C | ns | | | | ns | | | | ns | | | | ns | | | |
| Perl5.2 | A | ns | | | | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | B | ns | | | | ns | | | | * | -7.66 | | | ns | | | | | |
| | C | ns | | | | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | |
| Cromosoma 5 | RM430 | campo | bals | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| | | | A | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | RM487 | campo | C | ns | | | ns | | | | ns | | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | bals | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | A5.2 | A | ns | | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | | B | ns | | | | ns | | | | p | -6.52 | | | * | -0.20 | | |
| | | | C | ns | | | | ns | | | | ns | | | | ns | | | |

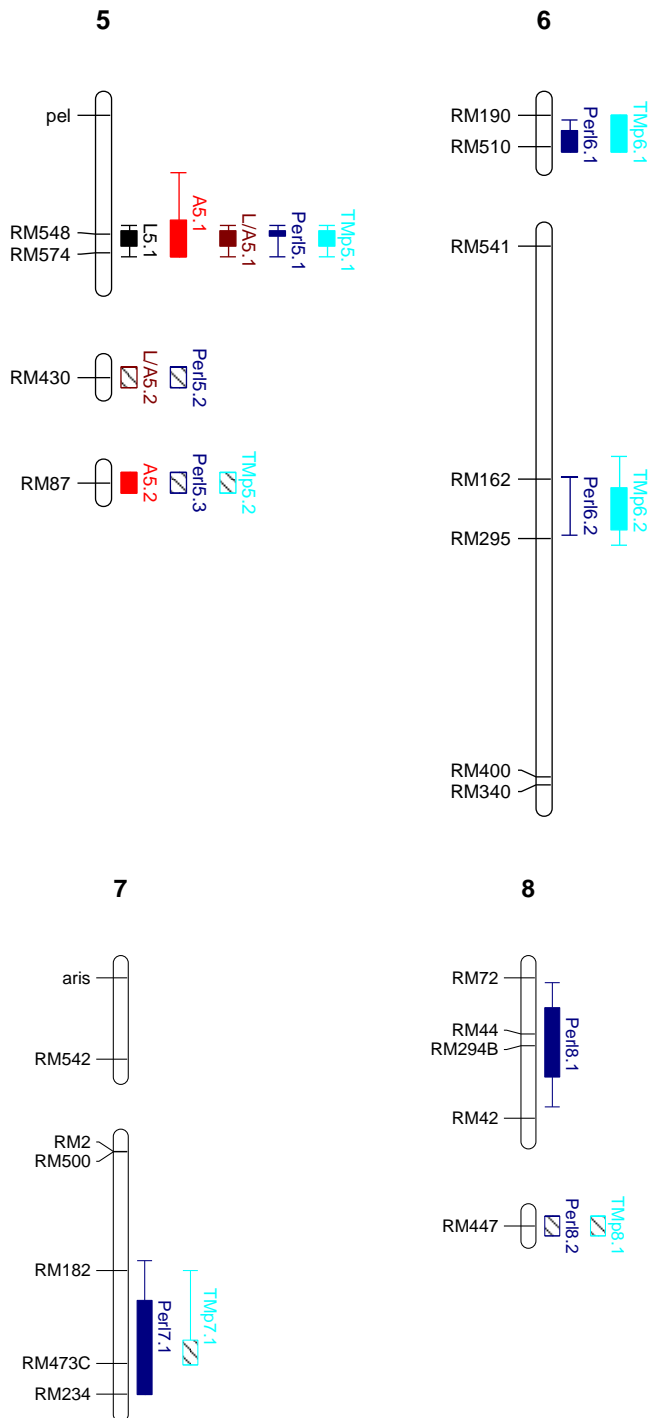
| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | L | | | A | | | L/A | | | Perf | | | TmP | | | | | |
|--------------|------------------|--|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|----|-----|----------------|-----------------|--------|--------|----------------|-----------------|-------|-------|----------------|------|----|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | |
| Cromosoma 6 | RM190-RM510 | A | ns | | | ns | | | ns | | | ** | -6.84 | 5.03 | 12 | *** | -0.20 | -0.46 | 35 | |
| | | B | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | C | ns | | | ns | | | ns | | | ** | -10.87 | | | * | -0.19 | | | |
| | RM541-RM295 | campo | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | bals | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | | ns | | | ns | | | ns | | | p | -5.60 | 5.31 | 8 | ns | | | | |
| | RM473C-RM234 | L6.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | A6.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | L/A6.1 | p | -0.03 | -0.14 | 6 | ns | | | p | -0.01 | -0.07 | 15 | ns | | | ns | | | |
| | | Perf6.2 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | |
| | | TmP6.2 | p | -0.18 | | | ns | | | p | -7.30 | 5.72 | 10 | ns | | | *** | 0.20 | 0.23 | 17 |
| | | | ns | | | | ns | | | ns | | | | | | ns | | | | |
| RM444-RM294B | Perf7.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | TmP7.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | Perf8.1 | ns | | | ns | | | ns | | | *** | -8.86 | -12.65 | 23 | p | -0.23 | -0.19 | 19 | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | * | -8.41 | | | * | -0.21 | | | | |
| RM447 | Perf8.2 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | TmP8.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | * | -11.83 | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | * | -9.76 | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | * | -7.30 | | | * | -0.22 | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | * | -8.01 | | | * | | | | | |
| RM316 | A9.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | L/A9.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | TmP9.3 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | ** | 0.05 | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| RM171-RM333 | L9.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | Perf9.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| Crom. 10 | A10.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | L/A10.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | Perf10.1 | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | TmP10.1 | ns | | | ns | | | ns | | * | -5.67 | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | |
| | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | | |
| | ns | | | ns | | | ns | | | * | 6.38 | 1.32 | 8 | ns | | | | | | |
| | ns | | | ns | | | ns | | | * | -0.05 | 0.04 | 13 | ns | | | | | | |
| | ns | | | ns | | | ns | | | p | 0.05 | -0.02 | 7 | ns | | | | | | |
| | ns | | | ns | | | ns | | *** | -0.06 | -0.02 | 17 | ns | | | | | | | |

| Intervalo | QTL ^d | Análisis ^a ambiente ^b | L | | | A | | | L/A | | | Perl | | | TMP | | | | | | |
|--------------|------------------|--|-----------------|-------|-------|----------------|-----------------|---|-----|----------------|-----------------|------|--------|----------------|-----------------|---|---|----------------|--|--|--|
| | | | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | LR ^c | a | d | R ² | | | |
| Cromosoma 11 | RM21 | A | ns | | | ns | | | ns | | | * | -10.20 | | | | | | | | |
| | | B | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | RM105-RM144 | campo bals | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | A | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | B | ** | -0.12 | 0.11 | 13 | ns | | | * | -0.04 | 0.02 | 12 | ns | | | | | | | |
| | | C | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | campo bals | | ns | | | ns | | | p | -0.05 | 0.01 | 11 | ns | | | | | | | |
| | | A | ** | 0.13 | | | ns | | | * | 0.05 | | | ns | | | | | | | |
| | Cromosoma 12 | RM453 | A | * | -0.12 | | ns | | | * | -0.03 | | ns | | | | | | | | |
| B | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | | |
| C | | | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| RM101-RM260 | | campo bals | | ns | | | ns | | | * | -0.05 | | ns | | | | | | | | |
| | | A | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | B | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | C | ns | | | | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| | | campo bals | | ns | | | ns | | | ns | | | | ns | | | | | | | |
| | | A | *** | -0.11 | 0.25 | 45 | ns | | | ns | | | ns | | | | | | | | |
| RM260-RM309 | | B | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | campo bals | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

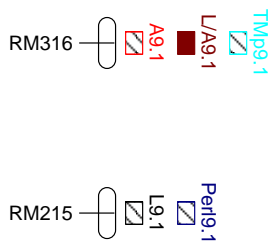
Figura 24. QTLs de dimensiones del grano y de perlado: longitud (L), anchura (A) y relación longitud anchura (L/A), porcentaje de granos perlados (Perl) y tamaño medio de la perla (T_{mp}), en la población MS. Las barras sólidas corresponden a LR ≥ 10, y las rayadas a LR ≥ 8; los brazos son el intervalo de confianza del QTL. Se han representado con una sola línea los posibles QTLs (LR ≥ 6).



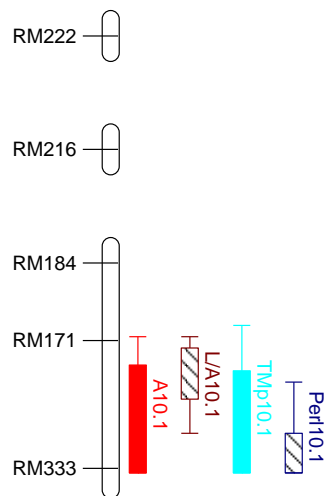




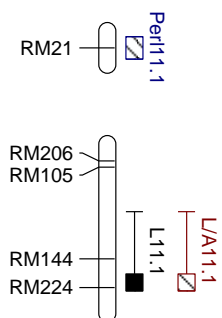
9



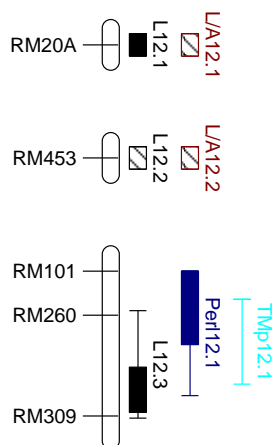
10



11



12





5. Discusión

5. Discusión

Este estudio está integrado en el programa de Mejora del Departamento de Arroz del I.V.I.A., y con él se pretende ampliar el conocimiento del control genético de varios caracteres de interés agronómico para la mejora del arroz y en las condiciones de cultivo de la Comunidad Valenciana. Dada la naturaleza de los caracteres evaluados, se han realizado paralelamente un análisis cuantitativo y un análisis de QTLs. Con el primero se han calculado las heredabilidades, las diferencias entre los genotipos y ambientes estudiados, la correlación entre los caracteres, y la respuesta a la selección; y, mediante el segundo, se han identificado QTLs implicados en cada carácter, analizando sus efectos genéticos y expresión en las diferentes poblaciones y ambientes. El objetivo final es aumentar la eficacia de la selección en la obtención de nuevas variedades, ya que será posible diseñar estrategias mejor adaptadas a cada carácter, y disponer de marcadores ligados a los QTLs de interés para realizar selección asistida por marcadores (M.A.S.).

La tesis se ha realizado sobre dos familias segregantes F2 que tienen el mismo parental femenino: una línea F6 derivada del cruzamiento Z9 x Leda; como parentales masculinos se han utilizado, en un caso la variedad Jsendra y, en el otro, una línea de mejora del Departamento de Arroz del IVIA procedente del cruzamiento Marjal x Senia. Además, se han evaluado las plantas F2 en dos ambientes (campo y balsetas) para conocer su efecto en los caracteres y en la expresión de los QTLs y, también, para comprobar la idoneidad de la selección en balsetas en las primeras generaciones, como se viene haciendo en el Departamento del arroz.

5.1. Análisis molecular de las poblaciones

Para la obtención del mapa de ligamiento y posterior análisis de QTLs se cribaron 156 marcadores SSR en los parentales de ambas familias, encontrándose un porcentaje de polimorfismo del 49% en la familia F2MS y del 47% en la familia F2J. Este nivel de polimorfismo puede parecer limitado, teniendo en cuenta que este tipo de marcadores se consideran muy variables; sin embargo es del orden del encontrado en otros cruzamientos inter-subespecíficos de arroz utilizando el mismo tipo de marcadores: un 48% en *japonica* x *indica* (Zhang y col., 2001), un 23% en *japonica* templado x *japonica* tropical (Yamagishi y col., 2004), o un 19.5%

entre *japonica* templados (Kwon y col., 2008). En este estudio podríamos esperar valores similares o inferiores a este 23%, pues las variedades utilizadas en los cruzamientos, a excepción de Z9, pertenecen a la subespecie *japonica* templado y están muy relacionadas entre sí, ya que se obtuvieron en el I.V.I.A. y comparten una buena parte de su germoplasma: así, por ejemplo, Leda, Marjal y Senia tienen en su pedigrí a la variedad Sequial (y Marjal y Senia también tienen entre sus progenitores a la variedad Bahía); a su vez, Senia es uno de los parentales de Jsendra. Por otra parte, la línea Z9 fue proporcionada por el I.R.R.I. y responde a los esfuerzos por parte de este organismo de crear lo que se vino a denominar “nuevo tipo de planta” de arroz (Khush, 2001); para ello, se utilizó básicamente germoplasma de la subespecie *japonica* tropical; el objetivo era un ideotipo de planta con bajo ahijamiento, altura de 90 a 100 cm, ciclo corto, panículas con muchos granos, tallos gruesos y resistentes, hojas erectas y de color verde oscuro, y un vigoroso sistema radicular. Con la incorporación de ésta y otras líneas similares al programa de mejora del I.V.I.A., se amplía la base genética de éste, buscando principalmente la introducción de tallos más gruesos; por ello, puede ser de interés identificar qué zonas del genoma de Z9 se han incorporado mediante selección fenotípica a la línea (Z9 x Leda).

Los marcadores que resultaron polimórficos entre los parentales (Z9 x Leda) y (Marjal x Senia) se cribaron en los individuos de la población F2MS. Algunos marcadores mostraron segregaciones no esperadas en una F2: algunos presentaron más de un tipo de heterocigotos y más de dos tipos de homocigotos; otros, segregaciones extremadamente distorsionadas; y, finalmente, alelos de procedencia desconocida, que no se encuentran en ninguno de los parentales ni en los progenitores de éstos. Si bien en los microsatélites es posible la generación de nuevos alelos con una frecuencia mayor que en otros tipos de marcadores (por el fenómeno conocido como “slipage” o deslizamiento), el número de alelos de procedencia desconocida en nuestras poblaciones es demasiado alto para creer que sea ésta la única causa. La siguiente hipótesis fue pensar que esta F2 fuera una mezcla de genotipos; esto era posible porque los parentales utilizados en el cruzamiento conservaban probablemente un cierto grado de heterocigosis: el parental femenino era una línea F6 y el parental masculino una línea F9, generaciones que aún no han alcanzado un alto grado de homocigosis. En estas generaciones lo esperable sería un 3.1% y un 0.4% de heterocigosis, respectivamente. Pero la presencia en un mismo marcador de alelos inesperados,

además de los esperados, indica que no se trata sólo de heterocigosis residual, sino que ha tenido lugar la introducción de otro germoplasma en la generación de la familia. Se procedió a utilizar los alelos de los marcadores con segregaciones no esperadas para clasificar los individuos en grupos, y se encontró que estas agrupaciones eran coherentes con la existencia de tres subpoblaciones distintas, a las que hemos denominado F2MS-A, F2MS-B y F2MS-C. Tras la distribución en subfamilias se analizó la segregación de los marcadores (alelos presentes y su procedencia, así como frecuencias de los genotipos), comprobándose que la mayoría de los marcadores segregaron de acuerdo con la proporción esperada si cada subfamilia fuera una F2 (como puede verse en la Tabla 6); así, pues, se concluyó que la población con la que se estaba trabajando era, en realidad, la descendencia de la autofecundación de tres individuos híbridos diferentes, que no serían F1s propiamente dichas.

Respecto al origen de estos distintos híbridos, se descartó que se debiera sólo a la heterocigosis de los parentales: en el caso del parental femenino esta causa sí es compatible con los resultados, pues sólo en tres de los 70 marcadores el alelo del parental femenino no es común a las tres subfamilias; es decir, un 4%, lo cual está de acuerdo con la heterocigosis esperada en una F6. Por otra parte, hay cuatro marcadores (situados en cuatro cromosomas distintos) en los que el parental femenino presenta un alelo extraño, no encontrado ni en Z9 ni en Leda, pero común en las tres subfamilias. Es decir, estos alelos parecen estar en homocigosis en la planta o línea madre, lo cual indicaría que la introducción de polen extraño ocurrió en las primeras generaciones del proceso de selección de la línea (Z9 x Leda). Además, se observa que la línea (Z9 x Leda) presenta un 51% de los marcadores con el alelo de Z9, que puede considerarse un germoplasma exótico y poco adaptado para los requerimientos de nuestra zona; estos marcadores con el genotipo de Z9 fijado se concentran en determinadas regiones cromosómicas: en la mayor parte del cromosoma 1, en el brazo largo de los cromosomas 3 y 6, y en algunas zonas de los cromosomas 5, 8, 9 y 10. En los siguientes puntos se discutirá si la introgresión por selección fenotípica de estas regiones del genoma de Z9 está relacionada con la incorporación de determinados caracteres de interés.

En lo referente al parental masculino, la situación es más compleja: no sólo un hipotético parental masculino único debería haber sido heterocigoto en 48

marcadores (prácticamente el 69%, mucho más de los que es esperable en una generación F9), sino que hay siete marcadores en los que cada una de las tres subfamilias tiene un alelo distinto procedente del parental masculino; esto sólo puede suceder cuando el donante de polen masculino es más de uno. Es más, tal parental tendría que aportar la mayoría de los alelos desconocidos; en la mayor parte de los marcadores con alelos inesperados, éstos no se encuentran en las tres subfamilias, y pueden aparecer hasta 2 alelos (b y e) de origen desconocido en un mismo locus; todo esto llega al extremo en cinco marcadores, en los que hay 3 alelos distintos procedentes del polen y no de la planta madre -lo cual se deduce por el análisis de ligamiento- (los marcadores RM569, RM231, RM422 y RM514 en el cromosoma 3, y RM206 en el cromosoma 11). Por tanto, podríamos pensar que la denominada población F2MS procede del cruzamiento de un único parental femenino con polen de tres orígenes distintos, que podrían proceder de plantas no relacionadas entre sí. Sin embargo, como se describe a continuación, hay regiones que presentan el mismo genotipo en las 3 subfamilias, lo cual señala un origen común. Nuestra hipótesis es que en alguna de las últimas etapas de la selección de la línea de Marjal x Senia utilizada para el cruzamiento, ocurrió una polinización cruzada con polen de algún genotipo desconocido (aún con un cierto grado de heterocigosis, por la presencia de alelos b y e en un mismo locus); es probable que ocurriera en la generación anterior, pues esto explicaría una heterocigosis próxima al 70%. El resultado del cruzamiento entre una línea de Z9 x Leda que realmente fuera una F6, y una línea que fuera un híbrido entre una F8 de (Marjal x Senia) y alguna otra línea desconocida, serían varios tipos de híbridos. Creemos que esto es lo que ocurrió en la generación de esta población: se obtuvo semilla de tres plantas que parecían fenotípicamente híbridos F1 para producir una F2; pero estos híbridos no eran genéticamente homogéneos, y F2MS es, en realidad, la mezcla de tres poblaciones F2 (en la figura 16 se muestra el genotipo de las hipotéticas plantas híbridas cuya descendencia dio lugar a las F2).

De las tres subfamilias, la que presenta un mayor porcentaje de polimorfismo es F2MS-B, con un 37% de total de marcadores cribados, seguida por la -C con un 34%, y la menos polimórfica es la subfamilia -A, con un 25%. Este mayor porcentaje de polimorfismo de la subfamilia B es debido en gran medida a los alelos de procedencia desconocida, pues en esta subfamilia hay 30 marcadores en los que segregan alelos desconocidos, mientras que en las subfamilias A y C hay 13 y 10, respectivamente. En cuanto a las zonas del

genoma que resultaron comunes a las tres subfamilias, sólo el 27% de los marcadores muestran el mismo genotipo segregando en las tres. Las subfamilias A y C son las más similares entre sí, pues comparten alelos en el 57% de los marcadores, mientras que la subfamilia B sólo comparte genotipo en el 44% de los marcadores con la subfamilia C, y en el 43% con la A; lo cual está de acuerdo con que sea la subfamilia B la que ha heredado la mayor parte del genoma de origen desconocido. Además, esto también coincide con los datos de los caracteres evaluados ya que, en general, hay una mayor similitud entre el comportamiento agronómico de las subfamilias A y C que entre cualquiera de ellas y B.

La distribución de polimorfismos no fue uniforme a lo largo del genoma. En algunos cromosomas, como el 1, el 2, el 3 y el 6, se concentran la mayor parte de los marcadores polimórficos; en cambio, en otros, como en los cromosomas 4, 8, 9 y el 11 y especialmente en la subfamilia A, apenas se encuentran zonas segregantes; en otros estudios del IVIA, los cromosomas 4 y 9 también han mostrado muy poca variación (Bretó, comunicación personal). Coincidiendo también con nuestros resultados, anteriores estudios no encontraron marcadores polimórficos en algunas regiones del cromosoma 9 en cruzamientos entre líneas *japonica*, (Kobayashi y col., 2007; Tabata y col., 2007; Kwon y col., 2008). Todo ello sugiere que este cromosoma puede estar altamente conservado en esta subespecie, con genes y QTLs que determinan algunas de sus características particulares; también cabe suponer que tal falta de polimorfismo en los marcadores puede indicar también una escasa presencia de genes o QTLs en segregación que contribuyan a la variación en los caracteres. Por otra parte, se han detectado marcadores con segregación distorsionada en todos los cromosomas excepto el 4, aunque no coinciden en las tres subfamilias: sólo el marcador RM422 (cromosoma 3) coincide en F2MS-A y -B, y el RM473C (cromosoma 7) en F2MS-A y -C. Algunos de estos marcadores están situados en zonas en las que previamente se han detectado frecuencias alélicas que se apartan de las esperadas, como puede verse en la tabla 24; en esta tabla también se puede observar que, entre los posibles factores que pueden afectar a las frecuencias o la viabilidad de los gametos, cigotos o plántulas, la existencia en una región cromosómica de genes de esterilidad provoca segregaciones distorsionadas (como ocurre en muchas angiospermas).

| Crom. | Estudio actual | Estudios anteriores | | Genes de esterilidad |
|-------|----------------|-----------------------|---|---|
| 1 | RM488 | RG173, RG345 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-9 (Nakagahra, 1981; Maekawa y Kita, 1985; Suh <i>y col.</i> , 1990) |
| 2 | RM475 | RG157-RM331 | Huang <i>y col.</i> , 1997 Thomson <i>y col.</i> , 2003 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| | | RG520, RG654 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| | | RG437, RG171 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| 3 | RM422, RM514 | RG558, RG910 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | S-9 (listado por Kinoshita, 1991, 1993) |
| | | L375 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | | C198, CDO20, RG452 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-2, ga-3 (Nakagahra, 1972; Nakagahra <i>y col.</i> , 1972) |
| | | RG449, RG788 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-6, g-10, s-e-2 (listados por Kinoshita, 1991, 1993) |
| 5 | RM548 | RM516-RM13 | Huang <i>y col.</i> , 1997 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| | | RZ13, RG470 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| 6 | | Wx, RG456 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-1 (Iwata <i>y col.</i> , 1964), ga-4 y ga-5 (Mori <i>y col.</i> , 1973), s-a-1 y s-c-1 (Oka, 1953, 1957), s-d-1 (Oka, 1974), S-A-1 (Oka y Doida, 1962), S-B-2 (Oka, 1978), S-1, S-5, S-6, S-8, S-10 (listados por Kinoshita, 1991, 1993) |
| | RM400, RM340 | RM345-RZ405 | Thomson <i>y col.</i> , 2003 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| | | RM253-RM314 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 Xu <i>y col.</i> , 1997 Doi <i>y col.</i> , 1998 Kinoshita, 1995 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| 7 | | RG417, RG477 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-11, s-7 (listados por Kinoshita, 1991, 1993) |
| | RM473 | RM234-RM336 | Xiao <i>y col.</i> , 1996 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| | | RZ626, CDO405 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| 8 | | R2736 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | RM294B | RZ562, RG1 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| | | R2367 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | | RM264-CDO99 | Huang <i>y col.</i> , 1997 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| 9 | | C152 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | RM215 | RM215-RM257 | Xiao <i>y col.</i> , 1996 Septiningsih <i>y col.</i> , 2003 | |
| | | RG757, RZ12 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| 10 | RM216 | G1125 | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | | Y1053R | Harushima <i>y col.</i> , 1996 | |
| | | RZ625, CDO98 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |
| 11 | | RG118, RZ537 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | S-3 (listado por Kinoshita, 1991, 1993) |
| 12 | | RG901, RG323 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | ga-13 (Rha <i>y col.</i> , 1995) |
| | RM453 | RG574, RZ816 | Yu <i>y col.</i> , 1997 | |

Tabla 24. Marcadores con segregación distorsionada en este estudio que coinciden con los hallados en estudios anteriores y con genes de esterilidad.

Aunque en el desarrollo de esta tesis también se pretendía cribar con marcadores la población F2J para realizar el correspondiente análisis de QTLs, las

dificultades encontradas para interpretar los datos genotípicos de la primera población analizada lo han impedido. Sin embargo, para descartar que la población F2J también fuera una mezcla de poblaciones se cribaron 20 marcadores en todos los individuos de esta población, sin encontrar en ningún caso una segregación anómala. Esto es coherente con el hecho que esta población comparte el mismo parental femenino (Z9 x Leda) con la población F2MS, que como se ha comprobado tiene un alto nivel de homocigosis; mientras que el parental masculino es una línea pura, la variedad Jsendra.

La polinización cruzada es poco frecuente en el arroz, una especie que sin ser autógena estricta, sí tiende a autofecundarse; de hecho, los programas de mejora de arroz no tienen la precaución de embolsar las panículas que deben autofecundarse para evitar el acceso de polen ajeno. Este trabajo nos muestra que tal precaución no está fuera de lugar, e incluso sugiere que una parte de las variedades de arroz existentes en el mundo pueden no corresponder completamente a su supuesto pedigrí.

5.2. Implicación de la estructura poblacional en el análisis cuantitativo y de QTLs

Tanto un estudio de genética cuantitativa, al que podríamos denominar clásico, como un análisis de QTLs, requieren no sólo de datos fiables, sino también de análisis estadísticos potentes y robustos. El diseño experimental original de esta tesis iba dirigido a realizar una comparación de dos poblaciones con un mismo parental femenino, en dos fondos genéticos aportados por dos parentales masculinos diferentes. Paralelamente, se pretendía comparar la respuesta de los diferentes caracteres agronómicos en dos ambientes importantes para el programa de mejora del Departamento del arroz del I.V.I.A: balsetas frente a campo. En principio, 75 individuos F2 de cada población se iban a evaluar en cada uno de los ambientes; este tamaño de muestra ya se podía considerar limitado, pero el objetivo de evaluar todas las líneas F3 derivadas de los dos cruzamientos restringió el tamaño muestral a lo que nos pareció factible manejar: 300 líneas en total.

Sin embargo, al comprobar que la considerada como población “MS” es en realidad una mezcla de tres poblaciones, como se ha descrito en el apartado anterior, se decidió que los análisis estadísticos a aplicar sobre sus datos se

realizarían atendiendo a estos grupos, pues de continuar considerándola una población única, aparecerían confundidos los efectos genéticos de los diversos genotipos. Pero la división en subfamilias conlleva unos tamaños muestrales extremadamente reducidos (62 individuos en la subfamilia MS-A, 37 en la -B y 42 en la -C), que además, durante las evaluaciones de la generación F₂, se repartieron entre los ensayos en campo y en parcelas. De este modo, se reduce mucho la significación de los análisis estadísticos, y aumenta la probabilidad de error en las conclusiones extraídas de ellos. A continuación se discute como ha afectado todo ello a diferentes aspectos de esta Tesis:

En primer lugar, los análisis de varianza, cálculo de correlaciones, etc... se han realizado en la población J completa, y en la población MS de dos maneras: considerándola en su conjunto, y considerando cada una de las subfamilias MS por separado, incluso dentro de cada ambiente. Creemos que las comparaciones entre la población J y la población MS en su conjunto, o de los dos ambientes dentro de ésta, tienen validez en muchos caracteres, especialmente en aquellos en que no se han encontrado diferencias significativas al comparar las subfamilias MS entre sí (sólo la longitud y el peso de las panículas han mostrado diferencias significativas en las dos generaciones y ambientes); y ello está justificado porque, pese a que los parentales masculinos de cada subfamilia MS no fueron idénticos, las subfamilias comparten un grado de consanguinidad bastante elevado: alrededor de un 50% del genoma en las regiones que mostraron polimorfismo en los marcadores, pero puede ser más elevado en las regiones que no muestran variabilidad en los SSRs, que probablemente estén muy conservadas. Por ello, consideramos que las diferencias genéticas entre subfamilias pueden haber afectado poco al análisis cuantitativo de los caracteres, en el que los efectos de los diferentes QTLs que participan se muestran combinados entre sí y con los efectos ambientales.

Por otra parte, los análisis que se refieren a las comparaciones de las subfamilias dentro de cada ambiente ensayado en F₂ son los que están más sujetos a error, dado que es aquí donde el tamaño muestral es muy limitado. Lo que observamos es que el cálculo de las heredabilidades no parece verse muy afectado, pues en prácticamente todos los casos los valores obtenidos son del mismo orden en las tres subfamilias, y en la población como conjunto (únicamente la H² del peso total de la subfamilia MS-B en F₃ difiere del resto, pero no así la h²).

En ambas generaciones, es en el cálculo de correlaciones donde encontramos las principales diferencias, en lo que se refiere a la significación, aunque en la mayoría de los casos se mantiene una misma tendencia en todas las combinaciones genotipo-ambiente. El problema no es tan acusado en los análisis de las líneas F3, pues aquí todas las plantas estaban sometidas a un mismo ambiente (bastante homogéneo, además, como atestigua el ANOVA de las plantas testigo. Esto ocurre también al comparar las generaciones F2 y F3 de la población J, en la que no nos consta que existan diferencias genéticas; de manera que podemos deducir que los cambios en las correlaciones son achacables a los cambios en las frecuencias genotípicas (y a los efectos asociados de reducción de la dominancia) al pasar a la siguiente generación; sin olvidar que existen limitaciones en las valoraciones fenotípicas de las plantas F2 (valoración de un individuo, sin repetición), y de las líneas F3 (la variación dentro de cada línea, que no siempre se ve completamente representada en los 6 individuos valorados en este estudio – aunque este fue el máximo que resultaba factible evaluar). De todos modos, en los siguientes apartados de la discusión sólo se hace mención a aquellas correlaciones que han resultado significativas de manera consistente en varias generaciones, poblaciones y/o ambientes.

En lo que respecta al estudio de QTLs, se ha realizado dos tipos de análisis: por un lado, se han buscado las regiones cromosómicas implicadas en el control genético de cada carácter en cada una de las subfamilias de MS, tanto en F2 (con los datos de las plantas crecidas en ballestas y en parcelas, conjuntamente), como en F3 (con las medias de las líneas, cultivadas todas en una misma parcela). Para estos análisis se utilizó el mapa de ligamiento obtenido en cada subfamilia, con sus correspondientes marcadores y distancias genéticas. Y por otro lado, se ha realizado un análisis de QTLs con los datos de las plantas F2 en cada uno de los ambientes considerados, con los datos conjuntos de las tres subfamilias. En este caso, sólo se han considerado aquellos marcadores que segregaban en al menos dos de las subfamilias, y las distancias genéticas entre ellos se han obtenido de un mapa consenso. Este mapa consenso se ha usado también para representar gráficamente la localización, aproximada, de los QTLs.

En el análisis de los resultados sobre los QTLs identificados por subfamilias, hay que tener en cuenta, pues, que en las F2 aparecerán mezclados los efectos de los QTLs tal y como se expresen en los dos ambientes. En los

casos en que no haya un claro efecto ambiental sobre un QTL, éste se detectará o no sólo en función de la magnitud de su efecto sobre el carácter en esa subfamilia; pero cuando sí exista interacción QTL-ambiente, los efectos pueden llegar a contrarrestarse, de manera que un QTL efectivo puede no detectarse. Se consideró la posibilidad de realizar el análisis por separado, pero el escaso número de individuos que quedarían en cada grupo nos hizo descartar esta opción; en su lugar, preferimos valorar de forma crítica los resultados obtenidos, y tener en cuenta únicamente aquellos QTLs que se mostrasen significativos de forma repetitiva en más de una subfamilia, generación o ambiente. Otra opción hubiera sido realizar sólo el análisis en F3, pero lo descartamos porque nos interesa tener una estima aproximada del efecto ambiental sobre los QTLs; y también hay que tener en cuenta que el análisis en F3 se ha llevado a cabo con los datos promediados de las líneas, los cuales representa los valores aditivos de los individuos F2 originales, pero no con exactitud los valores dominantes (dado que el nivel de heterocigosis es la mitad). Así pues, en los casos en que los QTLs no se detectan por igual en las dos generaciones, podemos achacarlo tanto a la suma de los efectos ambientales que ocurre en las F2, como a las diferencias en los efectos genéticos entre F2 y F3.

Por el contrario, en los resultados del análisis de QTLs en cada ambiente aparecerán confundidos los diferentes efectos genéticos que puedan tener en las distintas subfamilias; según el alelo del QTL presente en cada una de ellas, los efectos pueden ser similares en ese ambiente (o no segregar en alguna subfamilia), y sumarse; pero también podrían ser de signo contrario, y contrarrestarse. Puesto que vemos que sí existen abundantes diferencias genéticas entre subfamilias, no es de extrañar, por lo tanto, que en muchos casos los QTLs que se detectan en el análisis por subfamilias no se manifiesten en el análisis por ambientes. Por otro lado, en algunos casos detectamos QTLs en uno de los ambientes que no son significativos en ninguna de las subfamilias; esto sería debido a que existe diferente expresión entre el campo y las balsetas, que se confunden al mezclar los efectos de los dos ambientes en las subfamilias F2MS.

Otra consecuencia del análisis con tamaños muestrales muy reducidos atañe a la significación y límites de confianza para las estimas de los efectos y las posiciones de los QTLs. Tenemos un ejemplo en la sobreestimación del porcentaje de variación explicado por los QTLs de algunos caracteres, principalmente en la

subfamilia de menor tamaño, MS-B. En ésta, además, se suelen encontrar mayor número de QTLs que en las otras dos, lo cual puede ser debido a la mayor probabilidad de aparición de falsos positivos al realizar el análisis con pocos datos; pero también hay que recordar que esta subfamilia es la que presenta mayor proporción de loci marcadores polimórficos, de modo que es esperable que en ella se detecten también más loci implicados en los caracteres estudiados. Sin embargo, sabemos que entre los QTLs detectados existirán, sin duda, falsos positivos (como ocurre incluso en trabajos realizados con poblaciones de tamaño mucho mayor). La mayoría de los QTLs detectados han superado el umbral de confianza calculado para cada carácter en una subfamilia o ambiente determinado (es decir, su LR supera el valor por encima del cual la probabilidad de error de tipo I es inferior al 5%, en ese análisis en particular); sin embargo, algunos otros que no alcanzaron tal umbral se han incluido entre los resultados ya que consideramos que el haber realizado varios análisis en paralelo, pese a la limitada robustez de cada uno de ellos, puede confirmar los QTLs detectados: QTLs de escasa significación en uno de los análisis quedan corroborados cuando se detectan también en otro diferente (subfamilia, generación o ambiente). Del mismo modo, tenemos en cuenta que las estimas de la magnitud de los efectos genéticos de los QTLs, así como de su posición en el genoma, son inexactas.

Por otra parte, al diferir los mapas de ligamiento entre las subfamilias, es posible que QTLs de un mismo carácter (o caracteres relacionados) que aparecen en regiones próximas pero no totalmente correspondientes según subfamilias, reflejen en realidad a un único QTL, aunque en casos de duda los hemos declarado diferentes.

La última consecuencia de que la población MS no sea en realidad un grupo homogéneo, la encontramos en el cálculo de la respuesta a la selección en F3 de los caracteres relacionados con el encamado: tal selección se llevó a cabo antes de conocer que la familia MS era una mezcla. Posteriormente, hemos observado que existió una cierta tendencia a seleccionar plantas de una subfamilia en particular según el carácter: la mayoría de las líneas seleccionadas por tener tallos gruesos y mayor resistencia al doblado procedían de la subfamilia A; se eligieron más plantas de MS-B con entrenudos más cortos, pero ninguna con mayor resistencia al doblado; y predominaron las pertenecientes a MS-C entre las seleccionadas para aumentar la longitud del entrenudo y el número de panículas.

5.3. Caracteres relacionados con la elongación

Mulder (1954) definió el encamado como una pérdida del equilibrio en el cuerpo de la planta; la parte inferior de la planta ha de soportar el peso de la parte aérea de la planta, incluyendo panículas, hojas y parte superior del tallo. La proporcionalidad entre la resistencia de la parte basal y el peso de la parte superior determina la vulnerabilidad de la planta de arroz al encamado. En los programas de mejora, la reducción de la altura ha sido el principal objetivo en la búsqueda de variedades que tenga una mayor resistencia al encamado. Seleccionar plantas de menor talla no sólo contribuye a disminuir el peso de la parte aérea, sino que además, desde el punto de vista de la dinámica, la reducción de altura hace que el momento (fuerza x distancia) que ejerce la parte superior de la planta en la parte basal sea menor. Por otra parte, la altura de la planta de arroz es uno de los principales caracteres agronómicos de los que depende la producción, junto con otros importantes determinantes de la arquitectura de la planta, como son la capacidad y ángulo de ahijamiento, o la morfología de la panícula (Wang y Li, 2005). La estrecha relación entre la altura, y estos y otros caracteres de interés, como la duración de la fase reproductiva, se ve reflejada en las habituales correlaciones que se encuentran en los abundantes estudios genéticos que han investigado estos caracteres simultáneamente, y que iremos analizando a lo largo de esta discusión, pues tales correlaciones pueden afectar a la toma de decisiones en cuanto a criterios de selección.

La altura de la planta de arroz está determinada por el número de entrenudos del tallo, y por la longitud de éstos, así como por la longitud de la panícula. La elongación de los tallos se produce principalmente durante la fase reproductiva, antes de la floración. Como se ha señalado en la introducción, se han descrito más de 60 mutantes que afectan a la altura del arroz, y su caracterización, junto con estudios en *Arabidopsis thaliana*, ha permitido esclarecer el papel fundamental que tiene el metabolismo de las giberelinas y de los brasinoesteroides en el control de la altura. Las giberelinas son una amplia familia de fitohormonas que regulan muchos aspectos del desarrollo vegetal, incluyendo la elongación de los vástagos (y células), la germinación y la dormancia, la floración, y la senescencia de hojas y frutos (Hooley, 1994); es por ello que la variación en la altura producida por alteraciones en la homeostasis de las giberelinas puede verse acompañada de variación en estos otros procesos del

desarrollo. La incorporación en los años 60 de la mutación más conocida en la ruta de las giberelinas, en el gen *Sd-1*, fue responsable de la drástica reducción de la altura en las variedades altamente productivas de la revolución verde (de entre 15 y 20cm al ser introducido en variedades *japonica*: Foster y Rutger, 1978); en la actualidad se conoce bien el mecanismo molecular que lo provoca (Monna y col., 2002, Sasaki y col., 2002; Spielmeyer y col., 2002). La mejora del rendimiento en las variedades semienanas se achaca a una mejor absorción de la luz, mayor índice de cosecha y respuesta al abonado nitrogenado, junto con una fuerte reducción de la tendencia al encamado. Murai y col. (2004) encontraron que *sd1* puede llegar a reducir un “índice de encamado” (la inversa de la fuerza de rotura del cuarto entrenudo) alrededor de un 50%, aunque este genotipo puede provocar una reducción del número de granos por panícula (Murai y col., 2002). Otros mutantes de giberelinas no han podido ser utilizados en mejora, debido a fenotipos indeseables que acompañan a la reducción de la altura. Por su parte, los brasinoesteroides no parecen afectar tanto a otros procesos biológicos de las plantas, aparte del crecimiento celular, pero las mutaciones ocurridas en esta ruta tampoco han sido ampliamente utilizadas para obtener genotipos de menor talla. Por otra parte, los genes afectados por estas mutaciones son los principales candidatos a corresponderse con los QTLs de elongación detectados en innumerables estudios.

En este trabajo se han estudiado, además de la altura, otros caracteres relacionados con la elongación, como son: los dos componentes de la altura total (longitud del tallo y de la panícula), la longitud de los entrenudos, y la longitud de la hoja bandera. Los resultados muestran que existe una correlación positiva entre todos estos caracteres, que generalmente es muy significativa, y que se ve reflejada también en los QTLs detectados en la población MS, pues encontramos regiones cromosómicas en las que se localizan genes que afectan simultáneamente a varios caracteres de longitud. En ocho intervalos se han detectado QTLs que afectan al menos a cuatro de los caracteres de longitud (dos en los cromosomas 1 y 3, y uno en los cromosomas 4, 5, 6 y 9), aunque no siempre se manifiestan en las mismas subfamilias y/o ambientes. En todos los casos el efecto aditivo es del mismo signo (dentro de cada subfamilia), lo cual está de acuerdo con un efecto en paralelo sobre la elongación de las células y de los distintos órganos, provocado por la acción de las mencionadas fitohormonas. De hecho, algunos de los QTLs co-localizan con genes candidatos: es el caso de

Lpan1.1 y Lhoja1.1, encontrados en F2MS-C, que solapan con la posición de *Ssi1* (Sunohara *y col.*, 2006) y *d6-1* (Yamamuro *y col.*, 2000), afectando ambas mutaciones a la elongación del segundo entrenudo. También el gen *Sd-1* es un candidato para los QTLs de elongación identificados en la región correspondiente a Ltallo1.2, en las subfamilias MS-A y -B; otros trabajos han encontrado QTLs en esta posición, siendo además estables en diversos ambientes (Yan *y col.*, 1999; Hittalmani *y col.*, 2003). Finalmente, la asociación del marcador RM87, en el cromosoma 5, con varios parámetros de elongación en la subfamilia MS-B, puede estar relacionada con la presencia en esa región de *Eui* (Elongated uppermost internode), que codifica una monooxigenasa del Citocromo P450 que desactiva las giberelinas activas (Zhang *y col.*, 2008).

La longitud del tallo (Ltallo) tiene una mayor contribución a la altura total que la de la panícula (justificado, en gran medida, por que las longitudes de ambos órganos no son de la misma magnitud ni tienen el mismo rango de variación, siendo los tallos considerablemente más largos que las panículas). Así, aunque los dos parámetros presentan correlaciones altamente significativas con la altura, éstas son mayores en el caso de Ltallo. Igualmente, se observa que existen más regiones cromosómicas cuyo efecto sobre la longitud del tallo repercute sobre la altura total, que aquéllas en que es el efecto sobre la longitud de panícula (Lpan) el que se detecta también en la altura; además, se observa que los efectos genéticos de los QTLs de Lpan, en valor absoluto, son generalmente menores que los de Ltallo. Hay varios QTLs que afectan a los tres caracteres; pero la selección mediante marcadores cercanos a ciertos QTLs (Ltallo6.2, en la subfamilia A; Ltallo3.3, en la subfamilia B; y Ltallo8.1 y Ltallo11.1, en la subfamilia C), permitiría obtener plantas de tallos más cortos sin que ello afectara significativamente a la longitud de la panícula. Esto es importante, pues los cambios en la longitud de las panículas podrían causar alteraciones en su rendimiento en grano; y, aunque las variedades modernas tienden a tener inflorescencias no muy largas, lo que se ha seleccionado en realidad es un cambio en la arquitectura de las panículas, que se han tornado no sólo más cortas, sino más compactas.

La altura, al igual que las longitudes del tallo y de la panícula, tienen valores de heredabilidad en sentido amplio (H^2) bastante altos en F2, especialmente en balsetas. Sin embargo, en la siguiente generación, los valores de H^2 de altura y longitud de tallo se reducen bastante, sobre todo en la población

MS, mientras que se mantienen altos para la longitud de la panícula (al igual que otros autores, que encuentran que éste es un carácter bastante heredable: Kobayashi *y col.*, 2003; Mei *y col.*, 2003). Al observar los valores de h^2 , vemos que la varianza aditiva explica gran parte de la varianza fenotípica de Ltallo y Alt (con la excepción de la subfamilia F3MS-A), y especialmente en Lpan, donde no parece existir varianza dominante. Sin embargo, en los QTLs de longitud de panícula detectados en MS, los efectos dominantes son considerables, como lo son también en los otros dos caracteres mencionados, y en numerosos estudios previos (Li *y col.*, 1995; Mei *y col.*, 2005). Por otra parte, los altos valores de heredabilidad indican que la selección en F2 y en balsetas, tal como se viene realizando, puede ser efectiva; y la experiencia demuestra que lo es, pues las plantas seleccionadas con una talla media-baja (generalmente 70 a 85 cm) dan lugar a plantas F3 no muy altas. Una explicación de que la existencia de dominancia no interfiera en la efectividad de la selección en F2 puede aportarla el estudio de QTLs, que indica efectos heteróticos de distinto signo; es decir, algunos loci en heterocigosis aumentan la elongación respecto a la media de los homocigotos (dominancia positiva), mientras que otros contribuyen a una reducción de las longitudes (dominancia negativa). Consecuentemente, el valor fenotípico de la elongación en F2 podría verse poco afectado por la heterosis.

El ANOVA de las plantas testigo demuestra la importancia del efecto ambiental sobre los caracteres de longitud: las plantas de Senia tuvieron tallos significativamente más largos (y, en consecuencia, fueron más altas) en balsetas que en cualquiera de las dos parcelas de campo: una alta densidad de siembra, como la que se da en las balsetas, provoca un estiramiento de las plantas. Esta es una respuesta habitual cuando existe competencia por la luz: evitar el sombreado por parte de las plantas circundantes mediante una estimulación del crecimiento en altura, además de otras alteraciones; es el conocido como síndrome de evitación de la sombra (SAS: “shade-avoidance syndrome”), un fenómeno mediado principalmente por el fitocromo B, que modula la respuesta a las auxinas (Smith y Whitelam, 1997). Por otra parte, las balsetas son un ambiente más homogéneo que las parcelas de campo; por lo tanto, un mayor peso de la varianza ambiental en campo explicaría las menores heredabilidades encontradas. Se encontraron diferencias significativas entre las plantas Senia de las distintas parcelas de campo, que se pueden explicar porque sus condiciones resultaron bastante diferentes: la parcela en la que se hallaba la población MS está junto a un

cortavientos natural (un cañaveral) que provoca mayores temperaturas y humedad que en otras del mismo campo, lo cual parece haber afectado a muchos de los caracteres, no sólo a los de longitud, pues en esa parcela el peso medio de las panículas fue especialmente bajo, y la maduración especialmente tardía. Pero lo que se observa en la comparación de ambientes en las poblaciones estudiadas es que, mientras que la población MS se comporta como los testigos (las plantas de campo de las tres subfamilias tienen tallos más cortos y son menos altas que las cultivadas en balsetas), en la población J ocurre lo contrario. Esto indica una clara interacción GxE, pues las plantas de F2J en balsetas no manifestaron mayor desarrollo, sino que fueron significativamente más bajas. En cambio, en la longitud de la panícula no se observan diferencias significativas entre las poblaciones desarrolladas en los dos ambientes, aunque sí en los testigos. Esto es coherente con que en los QTLs de altura y longitud del tallo se hayan detectado más diferencias de expresión entre los dos ambientes que en los QTLs de longitud de panícula, y con las altas heredabilidades de este carácter.

El ANOVA de Lpan muestra diferencias significativas entre las poblaciones J y MS en los dos ambientes y generaciones estudiados: las panículas de las plantas cuyo parental masculino es (Marjal x Senia) son más largas en promedio que las que son descendientes de Jsendra, particularmente en la subfamilia A (las de la subfamilia B son siempre las más cortas, aunque sólo es significativo en F2 en balsetas). Llama la atención que la media de la longitud del tallo (y de la altura) en la población MS, en las dos generaciones y en las tres subfamilias, sea menor que la de sus parentales (Z9 x Leda) y (Marjal x Senia). Esto podría ser debido al efecto de las regiones cromosómicas de origen desconocido que están segregando en esta población (pues en la población J no se observa este fenómeno), lo cual estaría respaldado por el hecho de que la subfamilia MS-B, la de mayor presencia de alelos de procedencia desconocida, es la de tallos más cortos; sin embargo, el análisis de QTLs no apoya claramente esta hipótesis. Por otra parte, la longitud de las panículas de la línea (Z9 x Leda) es considerablemente mayor que la de las dos variedades cruzadas para obtenerla. Es posible que esto también esté relacionado con la incorporación en las primeras generaciones de germoplasma de procedencia desconocida, pues los QTLs Lpan3.2 y 3.3 se han localizado en regiones en las que el alelo del parental femenino no corresponde ni a Z9 ni a Leda.

Se observa una alta correlación positiva entre la longitud del segundo entrenudo basal y la del tallo, en todas las poblaciones estudiadas. Esto se explica, en parte, porque en cuatro intervalos se han detectado QTLs que actúan simultánea y paralelamente sobre ambos caracteres. Pero parece que el número de entrenudos o la longitud de los entrenudos superiores son tanto o más determinantes en la longitud del tallo que la longitud del segundo entrenudo basal, pues en otros cuatro intervalos de las subfamilias F3MS-B y -C, el efecto del QTL sobre la distancia entre los nudos basales no repercute de forma significativa sobre la longitud total del tallo, y en la subfamilia A no se encuentra ningún QTL para L_{tallo} que esté afectando a la distancia entre nudos basales (de hecho, no se detecta ningún QTL para este carácter en esta subfamilia). La importante contribución del número de entrenudos la podemos observar también en las variedades ensayadas: Leda es la que tiene el tallo más largo, pero sus entrenudos están entre los más cortos, similares a los de Senia; por el contrario, Z9 tiene entrenudos más largos que Senia, pero sus tallos son más cortos. Es destacable que la distancia entre nudos de la población J es mayor que en la población MS, habida cuenta de que los entrenudos de Jsendra son bastante más cortos que los de (Marjal x Senia); es más, la media de F3MS (y sus subfamilias) es considerablemente menor que las de las líneas parentales. Existen dos posibles causas para ello: bien que la incorporación de germoplasma de origen desconocido en la población MS haya aportado alelos que acortan los entrenudos, o bien que existen interacciones entre los genes que actúan de distinta forma según el parental femenino se combine con el fondo genético de Jsendra o de (Marjal x Senia). La primera posibilidad no está respaldada por el análisis de QTLs, pues entre los detectados para este carácter sólo encontramos uno, en la subfamilia MS-C, en el que el alelo paterno es de origen desconocido, y además su efecto es un aumento en la longitud de los entrenudos; por lo tanto, parece que las interacciones epistáticas son las responsables del comportamiento observado. Por otra parte, ninguno de los QTLs que afectan a la longitud del segundo entrenudo se presenta simultáneamente en más de una subfamilia. Una posible explicación es que se localizan precisamente en regiones con genotipos diferenciados: los cuatro QTLs de la subfamilia C y al menos dos de la B, se detectan en regiones en las que el alelo del parental masculino es distinto al del resto de subfamilias.

También es llamativo que, a pesar de la baja heredabilidad de este carácter (la menor entre los parámetros de elongación estudiados), la respuesta a la selección positiva de distancia entre nudos resultó efectiva, aunque no lo fue la selección para reducir el carácter. No hemos podido analizar en detalle si la influencia ambiental es importante en este carácter, que sólo se ha medido en F3, en campo; pero se puede deducir que debe de serlo, pues la varianza genética parece no tener casi relevancia respecto a la ambiental, habida cuenta de las bajísimas heredabilidades. Esto, junto con la falta de respuesta a la selección para acortar los entrenudos, además de la laboriosidad que supone la medida de este carácter, no parece recomendar que sea tenido en cuenta como parámetro a seleccionar para reducir la altura de las plantas de arroz. Pero la importancia de la reducción de la distancia entre nudos en la obtención de variedades de talla baja la podemos observar en la variedad Jsendra, que en el proceso de selección para baja altura ha visto notablemente reducida la longitud de los entrenudos respecto a la de sus progenitores (si bien esta característica no fue seleccionada directamente, sino que se buscó la reducción de la altura como carácter global).

La longitud de la hoja bandera es un carácter altamente influenciado por el ambiente, en coincidencia con lo observado por Yamagata (1997): por un lado, la heredabilidad es bastante baja, sobre todo en campo; además, se han observado diferencias entre los testigos homocigotos situados en los cuatro emplazamientos ensayados. También en el ANOVA se observa que existen diferencias significativas en la comparación de ambientes en la población F2J, y en las subfamilias de F2MS (aunque sólo fueron significativas en C), con coeficientes de determinación en el ANOVA por ambientes entre un 53 y un 61%. En todos los casos (testigos, poblaciones, y ambientes), Lhoja fue mayor en balsetas; esto, tal como se ha indicado en el caso de la altura y Ltallo, probablemente sea una respuesta a la competencia por la luz, bien desarrollando mayor superficie fotosintética, bien sobresaliendo por encima de las plantas vecinas. La importante influencia ambiental es coherente con que la mayoría de los QTLs detectados para este carácter sólo se expresan en uno de los ambientes, predominando los efectos aditivos de signo positivo en campo (5 de 7) y de signo negativo en balsetas (4 de 5); es más, en los QTLs Lhoja3.1 (en la subfamilia F2MS-A) y Lhoja12.1 (en la -B), el alelo del parental femenino aumenta la longitud de la hoja en campo, pero la reduce en balsetas. Sin embargo, cabe destacar que los QTLs detectados para este carácter son, en general, de escasa significación. Además, aunque existen

importantes correlaciones positivas de la longitud de la hoja bandera con la altura y las longitudes del tallo y de la panícula, el análisis de QTLs no las explica claramente, pues sólo algunos de los QTLs más significativos para Ltallo o Lpan afectan también de forma notable a Lhoja; más bien parece que el control genético de este carácter está determinado por un mayor número de genes y de efectos menores que en los otros caracteres de elongación considerados. Por todo ello, y la utilización de Lhoja como criterio de selección es poco recomendable.

En general, encontramos pocas coincidencias entre los QTLs detectados para los caracteres de elongación entre las 3 subfamilias de la población MS, pues sólo dos regiones coinciden en dos de ellas: por un lado, la región correspondiente a Alt3.3 tiene efectos sobre varios de estos caracteres en las subfamilias MS-B y -C (aunque los efectos aditivos son de signo opuesto en cada subfamilia, probablemente debido a los diferentes alelos del parental masculino; la subfamilia -A presenta un alelo diferente a éstos, lo cual puede explicar que el QTL no se detecte en este caso). La otra región es la de Alt9.1, que se detecta en las subfamilias A y B, con igual efecto aditivo en ambas; en esta región también se han detectado QTLs de elongación en múltiples trabajos previos, como puede observarse en la tabla 25, que muestra todas las coincidencias encontradas entre los QTLs identificados en esta tesis y los publicados hasta el momento. Todo esto da cuenta de la complejidad del control genético de estos caracteres, y de las dificultades para su mejora: en la actualidad, la mayoría de las variedades élite son ya de talla reducida, y la variación que pueden aportar los genes en segregación en los programas de mejora no suponen cambios tan notables en el fenotipo como los que aportaron los genes de semenanismo en el pasado (en nuestro estudio, los efectos aditivos de los QTLs suelen estar entre los 2 y los 5 cm, del orden de los encontrados en otros trabajos: Xiao *y col.*, 1996; Zhuang *y col.*, 1997). Aún así, la acumulación de varios QTLs de efectos significativos y que no afecten negativamente a otros caracteres agronómicos, puede aún permitir acortar la estatura de las plantas de arroz, con vistas a reducir su encamado.

5.4. Caracteres relacionados con la producción

Como se ha comentado anteriormente, el peso de la parte aérea de la planta de arroz ejerce un momento sobre la parte inferior del tallo que, cuando se alcanza el peso máximo en la madurez, puede superar la resistencia del tallo y

hacer que las plantas se encamen; pero, además, puede dificultar que los tallos recuperen la verticalidad si han sido doblados por algún agente físico. No obstante, dado que los principales componentes del rendimiento en grano son precisamente el número de panículas y su peso, no se contempla una reducción de éstos para aumentar la resistencia al encamado. El objetivo del mejorador es, por tanto, identificar y aprovechar los factores que permitan reducir el encamado sin comprometer el potencial productivo.

Los caracteres de producción estudiados en esta tesis son los que se suelen utilizar en los programas de mejora del Departamento: peso total de las panículas de la planta, número y peso de las panículas, y peso de 100 granos. Las correlaciones entre ellos muestran que en la producción total de la planta es más determinante el número de panículas que su peso, existiendo correlación positiva en todos los casos, mientras que la correlación entre producción total de la planta y el peso de la panícula no siempre se mantiene. Sin embargo, el número de panículas es un carácter altamente influenciado por el ambiente, como muestran sus valores de heredabilidad, siendo para el peso de la panícula algo mayores. La dificultad en la mejora de la producción estriba en que sobre sus componentes influyen notablemente factores como la densidad de siembra, las condiciones de cultivo (fertilización, régimen de riego,...) e, indudablemente, las climáticas. El arroz responde a estos factores ambientales redistribuyendo los componentes del rendimiento: la densidad de plantas suele ser inversamente proporcional a su ahijamiento. Cuando se evalúan generaciones tempranas (F₂, F₃, etc.), las condiciones en las que se desarrollan las plantas difícilmente son comparables a las que finalmente tienen las variedades comerciales; por ello en la selección para producción no siempre se obtiene una respuesta efectiva. De hecho, los índices de rendimiento de las variedades comerciales se centran más en la producción por unidad de superficie que por unidad de planta (como se hace en las primeras generaciones de mejora), observándose que el número de panículas por unidad de superficie es bastante estable y el número de panículas por planta suele variar en función de la densidad de plantación (Martínez, 2010). El gran impacto ambiental se ve reflejado en una baja heredabilidad y en la escasa estabilidad de los rendimientos (y también de los QTLs identificados) al variar las condiciones de cultivo. Nuestro estudio coincide en ese sentido con los abundantes trabajos previos. Por un lado, en lo referente a la heredabilidad: el número de panículas y el peso total tienen H^2 muy bajas o nulas (variando según generaciones y

ambientes); además, esta baja contribución del componente genético no es aditiva, pues h^2 es cero en todos los casos. En el peso medio de las panículas, sin embargo, las H^2 son mayores, indicando una contribución importante del componente genético; pero aquí encontramos diferencias entre las poblaciones, pues mientras en la población MS, de nuevo, sólo existe varianza dominante, en la población J un 40% de la variación es debida a la varianza aditiva, lo cual implica en este caso posibilidad de mejorar este carácter. Desgraciadamente, en esta población no se ha realizado un análisis de QTLs que pueda indicarnos qué regiones cromosómicas están involucradas. También el peso de 100 granos tiene valores altos de H^2 ; pero al no haberlo analizado en F3 (por su laboriosidad), desconocemos si su varianza aditiva es importante.

Por otro lado, también en el ANOVA se comprueba el importante papel que juega el ambiente, ya que encontramos mayores diferencias debidas al factor localidad que a factores genéticos: en todos los caracteres, testigos, poblaciones y subfamilias, existen diferencias significativas entre el cultivo en campo y el cultivo en balsetas (con la excepción del P100 en la población J). Se observa que el cultivo en balsetas reduce el potencial de producción, dado que, como se ha comentado anteriormente, la mayor densidad de transplante hace que la competencia entre plantas por la superficie y la luz solar sea mayor, afectando a la producción. Aunque encontramos una excepción a esto (ya mencionada anteriormente): los testigos crecidos en la parcela de campo en la que se desarrollaron las plantas F2MS tuvieron panículas menos pesadas que los crecidos en la correspondiente balseta, o en la otra parcela, por las condiciones especialmente desfavorables que se dieron en esa parcela particular; esta es una nueva muestra de la existencia de interacción GxE, pues este efecto no se observó en las plantas MS crecidas en la misma parcela. La diferencia entre las parcelas en que se cultivaron las plantas F2 se pone también de manifiesto en la comparación de las poblaciones, pues entre éstas existen diferencias significativas en el Npan, el Ptot y el P100 que no se encuentran entre las balsetas, ni en F3.

El análisis de QTLs coincide con las conclusiones del análisis cuantitativo. Por una parte, corrobora la importante influencia ambiental en estos caracteres, ya que son muy pocos los casos en que los QTLs se detectan en los dos ambientes considerados, o en las dos generaciones. Y, por otra parte, respecto a la mayor contribución sobre el Ptot que parece tener el número de panículas que su peso,

se observa que de los dieciocho QTLs de peso total, catorce afectan al número de panículas y, con sólo una excepción, los efectos genéticos son del mismo signo. En siete de estas regiones coinciden también QTLs de peso de la panícula, aunque en algunos de ellos el signo de la aditividad es el contrario; y sólo encontramos dos QTLs en los que el P_{tot} parece depender del P_{pan} y no de su número. Respecto al peso de las panículas, de acuerdo con las correlaciones (que indican que el peso de los granos es un factor importante pero no definitivo), sólo siete de los catorce QTLs encontrados para P_{pan} coinciden con QTLs de P_{100} , mientras que encontramos otras 5 regiones que influyen sobre el peso de los granos sin que ello repercuta de forma perceptible sobre el conjunto del peso de las panículas. Finalmente, cabe destacar que se han identificado algunas regiones cromosómicas que afectan a varios de los caracteres estudiados, con efectos en el mismo sentido, y en más de una población; es el caso de los intervalos RM294A-RM246 en el cromosoma 1, y del intervalo RM422-RM148, en el cromosoma 3. También pueden ser de especial interés para mejorar simultáneamente tanto el número como el peso de las panículas: la región cercana a RM87 en el cromosoma 5, el intervalo *aris*-RM542 en el cromosoma 7, y el intervalo RM260-RM309 en el cromosoma 12; en estas regiones se detectan QTLs de efectos notables, aunque sólo en la subfamilia MS-B, pues en las otras dos no se ha podido analizar la segregación, debido a la ausencia de polimorfismo.

El análisis de QTLs también coincide con lo que predicen los valores de heredabilidad y los conocimientos previos sobre estos caracteres, en lo que se refiere a la importante contribución de la dominancia a la variación de la productividad. La existencia de heterosis para el rendimiento está en la base de los programas de mejora de variedades híbridas. Lo que encontramos es que predominan los QTLs en que existe dominancia y sobredominancia sobre aquéllos en los que la mayor parte de la variación es aditiva. Así, sólo el 15% de los QTLs de peso total, el 27% de los de número de panículas, o el 25% de los de peso del grano, no muestran una dominancia apreciable; en el peso de las panículas, la proporción de QTLs en los que la aditividad es predominante es del 38%. Por otro lado, en la mayor parte (76%) de los QTLs que presentaron dominancia, ésta es de signo positivo (presentando un 52% sobredominancia positiva); esto está de acuerdo, pues, con la potencial explotación de la heterosis para mejorar el rendimiento en este cultivo. Los QTLs con efectos sobredominantes pueden ser resultado de alelos dominantes ligados en repulsión (pseudo-sobredominancia: Li

y *col.*, 2008) o de alelos epistáticos (Kearsey y Pooney, 1996; Yu y *col.*, 1997). La existencia de dominancia positiva remanente en la generación F3 (cuyo grado de heterocigosis es todavía elevado) también podría estar en la base de la eficacia de la selección para aumentar el número de panículas en la población J, inesperada dada la baja heredabilidad de este carácter. No se obtuvo respuesta efectiva ni para la selección negativa en esta población, ni en ninguna de las dos selecciones en la población MS.

Al comparar las subfamilias de la población MS en F2 encontramos pocas diferencias significativas entre ellas: sólo el peso de las panículas y de cien granos de F2MS-B en ballestas son menores; en cambio, en F3, es la subfamilia F2MS-C la que presenta mayor número de panículas (y mayor peso total) que las otras dos. El análisis de QTLs no permite una buena comparación sobre el control genético de los parámetros de producción considerados entre las tres subfamilias, pues buena parte de los QTLs se localizan en regiones de diferencias alélicas que, en muchos casos, no han permitido analizar la segregación en todas las subfamilias (por ejemplo, en seis de los once intervalos implicados en el peso del grano, una o dos de las subfamilias no presentan polimorfismo; lo mismo ocurre en nueve de los quince intervalos implicados en el número de panículas). Pero sí podemos ver algunas regiones coincidentes: en el cromosoma 1 se han detectado QTLs en los intervalos Ptot1.2 y 1.3, y P100-1.2 que afectan a los mismos caracteres en las tres subfamilias (aunque no siempre con efectos genéticos similares); el QTL P100-3.2 afecta a este carácter en las tres subfamilias; y el intervalo RM295-RM340 en el cromosoma 6 explica gran parte de la variación fenotípica del Npan y del Ptot en la subfamilia MS-A (y también influye en el P100 en esta subfamilia y en MS-C). Cabe destacar que todas estas regiones coinciden con QTLs para estos caracteres identificados en estudios previos (tabla 25), por lo que parece que se trata de regiones que influyen de manera notable y estable en los parámetros de producción. Otros intervalos que podrían considerarse de interés son los correspondientes a los QTLs 5.2, 7.1 y 12.1, que sólo se detectan en la subfamilia MS-B, por tratarse de algunas de las mencionadas zonas no polimórficas en todos los genotipos; los dos últimos intervalos han sido identificados también por otros autores, por estar implicados en el control del P100 y el NPan. Estas regiones afectan de igual modo a los cuatro caracteres considerados: en F2, el alelo paterno contribuye a aumentar la producción y presenta una importante dominancia positiva en todos los caracteres (aunque no ha podido estimarse la

dominancia asociada al marcador RM87 en el cromosoma 5); pero los efectos dejan de ser significativos en F3, con la excepción de Npan7.1, en que los efectos cambian de signo. Dado este importante peso relativo de la dominancia, no parece aconsejable utilizarlos en mejora.

Durante el desarrollo, el arroz crece verticalmente, con el alargamiento del tallo (y posteriormente de la panícula), y horizontalmente, con el ahijamiento. En la mejora de la resistencia al encamado se debe buscar un equilibrio entre la altura de la planta y el peso de la parte superior. Pero estos caracteres se han mostrado correlacionados en estudios anteriores, relación que se ve reflejada también en su control genético, pues se han identificado loci ligados y efectos pleotrópicos de un único locus (Yan *y col.*, 1999; Yamamoto *y col.*, 2001). De hecho, Kobayashi *y col.* (2003) distinguen las regiones cromosómicas involucradas en el desarrollo en varios tipos: el primero, regiones que afectan simultáneamente a la elongación y al ahijamiento; el segundo, sólo a la elongación; el tercero, exclusivamente a la longitud del tallo; el cuarto, al desarrollo de la panícula (número y longitud de éstas); y el quinto, sólo a la regulación del ahijamiento. En nuestro trabajo, las correlaciones muestran una estrecha relación de los caracteres de elongación con el peso de la panícula y del grano en la población J y en las subfamilias de MS en F2, aunque no se mantiene en F3; mientras que hay poca correlación entre los caracteres de longitud y el peso total, y prácticamente nula con el ahijamiento. En la población MS se observan algunas regiones cromosómicas en las que se localizan QTLs que afectan a los caracteres de longitud y de producción con efectos paralelos sobre el fenotipo en los cromosomas 1, 2, 3, 5, 6, 11 y 12, y con efectos contrarios en los cromosomas 1, 2, 6 y 9, aunque no se detectan en todas las subfamilias. Para aplicar M.A.S., sería recomendable la selección independiente de estos caracteres: por un lado, de las regiones en las que se localizan QTLs que afectan sólo a los caracteres de longitud, como los intervalos RM465-RM124 del cromosoma 2, RM569-RM231 del cromosoma 3, RM72-RM44, RM42 o RM447 del cromosoma 8 y RM101-RM260 del cromosoma 12; y, por otro, de los intervalos en los que se localizan QTLs de los caracteres de producción como RM1 y RM473A-RM486 del cromosoma 1, *aris*-RM542 y RM473C-RM234 del cromosoma 7, RM44-RM294B del cromosoma 8, y RM184-RM333 del cromosoma 10.

5.5. Diámetro, porte y resistencia al doblado

Uno de los caracteres estructurales que algunos autores han relacionado con la resistencia al encamado es el diámetro del tallo. En nuestras poblaciones, los valores de heredabilidad en sentido amplio de este carácter son muy bajos (sólo son moderados los de la población J en F3), pero el efecto aditivo en su variación es nulo. En coincidencia con esto, las únicas diferencias significativas que encontramos en el grosor del tallo en F2 son debidas al ambiente en el que se desarrollaron las plantas: los diámetros son mayores en campo que en balsetas. Por el contrario, al comparar las plantas testigo cultivadas junto a las F2 no encontramos diferencias entre el cultivo en campo y en balsetas, pero sí entre las dos parcelas de campo; al igual que en otros caracteres (parámetros de longitud y peso de las panículas), las condiciones particulares de la parcela en que se cultivó la población MS resultaron restrictivas para el desarrollo, al menos de Senia. En la generación F3 sí se observan diferencias entre los cruzamientos, pues la población MS tiene tallos más gruesos que la población J. La influencia del ambiente sobre este carácter también se observa en el análisis de la subfamilia MS-B, ya que tres de los QTLs detectados sólo se expresan en campo, y uno sólo en balsetas. Contrariamente a lo esperado dados los valores de heredabilidad, la selección de plantas F3 con mayor diámetro fue eficaz en ambas poblaciones. Una posible explicación para ello la encontramos en la importante sobredominancia detectada en el análisis de QTLs: la mayor parte de las líneas seleccionadas pertenecen a la subfamilia MS-A, y al menos en los QTLs en que disponemos de este dato (Diam1.2 y Diam3.3), el efecto dominante es mayor que el aditivo, y positivo; es decir, las plantas heterocigotas tuvieron como media tallos más gruesos. Efectivamente, hemos comprobado que la mayoría de las líneas seleccionadas procedían de individuos heterocigotos en los marcadores cercanos a los QTLs. La sobredominancia para este carácter es también considerable en la subfamilia MS-B.

Al comparar las subfamilias de MS, sólo en campo hubo diferencias significativas en el diámetro del tallo: los tallos de la subfamilia A son significativamente más gruesos que los de B o C. El análisis de QTLs corrobora esta mayor similitud entre las subfamilias B y C, pues Diam2.2, Diam3.2 y Diam6.2, que se detectan en ambas subfamilias y explican conjuntamente el 41 y 57% de la variación en cada una, se localizan en regiones cromosómicas en las

que la subfamilia A difiere de las otras en los alelos del parental masculino. En la subfamilia A, por el contrario, los QTLs que explican el mayor porcentaje de variación son Diam1.2, que también encontramos con baja probabilidad en F2MS-C, Diam6.3 y Diam 9.1. En la subfamilia B se encuentran bastantes QTLs, varios de ellos incluidos sólo por su coincidencia con QTLs significativos en otras poblaciones o caracteres relacionados; pero como se ha indicado anteriormente, sus efectos y contribuciones relativas están sobreestimados. Sin embargo, entre los QTLs más significativos en esta subfamilia, encontramos algunos que no se detectan en las otras subfamilias.

El grosor de los tallos de (Z9 x Leda) es algo mayor que el de (Marjal x Senia), y de acuerdo con ello, en la mayoría de QTLs los alelos del parental femenino aumentan el grosor del tallo. Además, como se ha mencionado anteriormente, el peso del efecto dominante en el fenotipo es muy grande, especialmente en las subfamilias MS-A y -B. Por otra parte, en la mayoría de los casos, los QTLs para este carácter sólo se detectan en una de las dos generaciones analizadas; esto puede estar relacionado con el diferente método de medida utilizado: en F2 se midieron tallos individuales, mientras que en F3 se calculó el diámetro a partir de la longitud de la circunferencia formada por todos los vástagos de una planta; ambas determinaciones pueden no ser equivalentes. Finalmente, cabe destacar que cuatro de los QTLs detectados (Diam1.3, Diam2.2, Diam3.1 y Diam3.3) se localizan en regiones cromosómicas en las que otros autores encontraron también QTLs de grosor de los entrenudos basales (Mu *y col.*, 2004; Kashiwagi e Ishimaru, 2004; Zhu *y col.*, 2008).

Otro carácter estructural que nos interesa es el porte: por un lado, porque cabe suponer que las plantas cuyos tallos crecen poco inclinados, dando lugar a una planta compacta, pueden ser menos proclives al encamado o contribuir en menor medida a tumbar las adyacentes; pero, además, es interesante seleccionar plantas con un porte no muy abierto, que contribuye a mejorar el rendimiento del cultivo de arroz. El ANOVA detecta cierta influencia ambiental en este carácter, ya que los tallos de las plantas de las balsetas se inclinaron más, dando lugar a plantas menos compactas, que en campo, tanto en la población J como en las subfamilias de MS y en los testigos Senia. Además, los coeficientes de determinación muestran que el factor localidad influye más en la variación observada que el factor genético, pues apenas se encuentran diferencias

significativas entre estas poblaciones dentro de cada localidad. En el segundo año, las subfamilias de F3MS (y Senia) mostraron como media portes algo más cerrados que sus F2 ensayadas en campo el año anterior; aunque ocurrió lo contrario en la población J. Las H^2 fueron bastante menores en balsetas; de hecho, en las F2 de campo parece que toda la varianza observada sea genética. En consonancia con esta alta heredabilidad, dentro de las líneas F3 se observó una alta uniformidad (como muestra la figura 19), por lo que se decidió tomar un único valor por línea. Sin embargo, en F3 las H^2 fueron inferiores a las de F2 (en particular, en la población J). El análisis de QTLs no refleja esta influencia ambiental, pues sólo dos (uno de ellos con baja probabilidad), se manifiestan en un único ambiente. Además, los QTLs detectados en las subfamilias explican desde el 50 al 80% de la variación total de este carácter.

Las plantas de la subfamilia B tienen un porte más cerrado que el de las otras, tanto en F2 como en F3. Esto puede estar relacionado con el hecho de que, en la subfamilia B, cuatro de los QTLs que se han detectado están situados en regiones con alelos de procedencia desconocida. Tanto en la subfamilia A como en la C hay un QTL de efecto mayor en el porte, que explica más del 50% de la variación del fenotipo (Porte6.3 y Porte11.1, respectivamente), acompañado por otros QTLs con efectos menores. Por su parte, en la subfamilia B se han detectado siete QTLs, dos de ellos con un coeficiente de determinación próximo al 30%. Cabe destacar que, en general, los efectos aditivos son positivos (es decir, los alelos del parental masculino favorecen un porte más cerrado), aunque los efectos dominantes también son importantes. Los QTLs de efectos grandes que se detectan en las subfamilias explican los altos valores de heredabilidad. Varios estudios encontraron un QTL de gran efecto sobre el hábito de crecimiento en el cromosoma 9 (Yamamoto *y col.*, 1997a; Li *y col.*, 1999; Yan *y col.*, 1999; Qian *y col.*, 2001; Chen *y col.*, 2008), que parece estar asociado a las diferencias de porte entre las subespecies *indica* (porte más abierto) y *japonica*. En nuestro trabajo no se ha detectado tal QTL en el cromosoma 9: una posible causa sería la falta de variabilidad en este cromosoma; pero puesto que la suma de la contribución de los QTLs es muy elevada, más bien se sugiere que las líneas utilizadas en estos cruzamientos no segregarían para este gen, pues pertenecen todas a la subespecie *japonica*. Por otra parte, cabe destacar que se han detectado cuatro QTLs para el porte que actúan simultáneamente en, al menos, dos de las subfamilias (dos de ellos no podrían haberse detectado en la tercera subfamilia

por no haber segregación): en Porte7.1 y Porte8.1, el alelo del parental femenino provoca mayor apertura de la planta. Este último QTL, que se detecta en las 3 subfamilias, se localiza en la misma región en que Li y col. (1999) encontraron un QTL del ángulo del tallo. El QTL Porte10.1 tiene efectos aditivos de signo contrario en las subfamilias MS-A y -B, debido probablemente al diferente alelo aportado por el parental masculino; lo mismo ocurre con Porte11.1. Este QTL está situado en la misma región cromosómica en la que Ahn y Tanksley (1993) localizaron el gen *la* (lazy growth habit) en un cruzamiento entre *O. sativa* y *O. longistaminata*; también en el cromosoma 11 se localiza una mutación recesiva del gen *LAZY* cuyo fenotipo afecta también al ángulo de inclinación de los tallos (Abe y col., 1996; Li y col., 2007; Yoshihara y lino, 2007), pero ambos loci no aparecen en la misma ubicación en los mapas genéticos publicados, siendo posible que se trate de genes distintos.

Islam y col. (2007) encontraron correlaciones significativas entre la resistencia al empuje y el índice de encamado. Kashiwagi e Ishimaru (2004) describieron un método para medir la resistencia al empuje de las plantas con el uso de un “probador de postrado” (prostrate tester: Daiki Rika Kogyo Co., Tokyo, Japón), que mide la fuerza necesaria para doblar la planta al aplicar un empuje en su base. Con esta metodología obtuvieron excelentes resultados, ya que detectaron un QTL de efecto muy importante para la resistencia al empuje, y se ha demostrado que también contribuye notablemente a la resistencia al encamado. Este QTL (*pr15*) actúa retrasando la senescencia de las hojas y aumentando la reacumulación de carbohidratos en la parte basal del tallo durante la maduración (Kashiwagi y col., 2006). En este trabajo se ha probado un método alternativo para medir la resistencia al doblado: hemos medido la fuerza necesaria para doblar una planta por su base, pero al tirar en lugar de empujar. Este carácter sólo se midió en F₃, mostrando valores de H² moderadamente altos, y de h² iguales a cero, lo que indica una limitada influencia ambiental y que no existe variación genética aditiva, y que, por tanto, es un carácter difícil de mejorar en la obtención de líneas puras. Confirmando el análisis cuantitativo, cuatro de los seis QTLs detectados en este estudio muestran una clara sobredominancia (en otro, no se ha estimado el efecto dominante). Es más, en tres de ellos la resistencia al doblado es recesiva, lo cual explicaría que las medias de las tres subfamilias F₃MS fueran inferiores a las de cualquiera de sus parentales. Todos estos factores justifican que la selección para aumentar la resistencia al doblado no fuera eficaz en la población MS; por el contrario, la población J mostró un comportamiento intermedio al de los

parentales, y la respuesta a la selección fue moderada, indicando que en la población J parecen actuar factores genéticos distintos a los aportados por (Marjal x Senia) (ambas poblaciones resultaron significativamente diferentes en el análisis de varianza).

Aunque no se observan diferencias significativas en la resistencia al doblado entre las tres subfamilias de MS, sí se detectaron QTLs distintos en cada una de ellas. Se trata de QTLs de efectos importantes en algunos casos: Dobl3.1 y Dobl8.1, que sólo se detectan en la población B, determinan más del 30% de la variación de este carácter; Dobl7.1 y Dobl11.1, que sólo se detectan en la población C, determinan conjuntamente el 65% de la variación. En la subfamilia A, que precisamente no muestra segregación en los marcadores de tres de las regiones en las que se han situado los QTLs de las otras subfamilias, sólo se han detectado dos posibles QTLs. Cabe destacar que Dobl11.1, el único QTL detectado en este estudio sin una dominancia clara, está situado en la misma región del cromosoma 11 donde Kashiwagi e Ishimaru (2004) localizaron el locus *pr11* de resistencia al empuje. Esta región es, pues, una buena candidata para ser incorporada en un programa de mejora. Por otra parte, en nuestro estudio no se ha encontrado polimorfismo en la región en la que se localiza *pr15*.

A diferencia de lo observado por Islam y *col.* (2007), experiencias llevadas a cabo en el Departamento del Arroz del IVIA con posterioridad a esta tesis, con 16 variedades y dos líneas F5 descendientes de las poblaciones J y MS, no han encontrado correlaciones significativas entre la resistencia al doblado y el porcentaje de encamado estimado visualmente en parcelas de campo (García, comunicación personal). Todo ello, además de la laboriosidad que supone la evaluación de la resistencia al doblado y el importante efecto del evaluador (por ser una persona quien aplica la fuerza para doblar la planta en lugar de una máquina), nos hace concluir que la resistencia que la planta ejerce a ser doblada no es un buen criterio para la selección de plantas resistentes al encamado.

Kashiwagi y *col.* (2008) encontraron una correlación positiva entre la resistencia al empuje y el diámetro de los tallos (en un estudio con diez variedades); en nuestro estudio, la correlación equivalente entre la resistencia al doblado y el diámetro sólo es significativamente distinta de 0 (y positiva) en la población J. Sin embargo, en la población MS encontramos algunos QTLs

comunes a ambos caracteres, aunque los efectos sobre el diámetro son poco significativos: Dobl3.1, en F3MS-B, y Dobl7.2, en F3MS-C actúan simultáneamente sobre el diámetro y la resistencia al doblado, pero con un inesperado efecto de signo contrario. Todo ello indica que otros factores determinan la resistencia al doblado de los tallos, que son tanto o más importantes que el diámetro de los mismos. Tampoco en nuestro estudio hay correlación significativa entre la resistencia al doblado y el porte, o entre el porte y el diámetro del tallo, con la excepción de la subfamilia MS-A en F3, que se corresponde con la existencia de dos QTLs que sólo se detectaron en F3 y afectan simultáneamente a ambos caracteres, con signos opuestos (Diam1.2 y Diam8.1). Sólo hay un intervalo en el que se detectan QTLs de diámetro, porte y resistencia al doblado (el intervalo 3.1 en F3MS-C). También en la subfamilia MS-B encontramos tres QTLs que afectan tanto al porte como al diámetro, aunque con baja significación y una fuerte dominancia sobre el diámetro.

Donde se han encontrado correlaciones altamente significativas es entre una mayor resistencia al doblado y una mayor altura (y sus componentes, longitud del tallo y de la panícula) en F3J y F3MS-C. Contrariamente a esto, el estudio de Kashiwagi y *col.* (2008) no encontró correlación entre la altura y la resistencia al empuje. Sin embargo, nuestro resultado se ve confirmado por el análisis de QTLs, ya que cinco de los seis intervalos en los que se han detectado QTLs de doblado (y no sólo en la subfamilia MS-C) muestran un efecto en paralelo sobre caracteres de elongación (Dobl1.1 y Ltallo1.1; Dobl2.1, Alt2.2 y Lpan2.1; Dobl3.1 y Lpan3.1; Dobl8.1 y Alt8.1; Dobl11.1, Alt11.1, Ltallo11.1 y Entrn11.1). En la misma dirección apunta el hecho de que las líneas parentales, especialmente (Z9 x Leda) y Jsendra, son más bajas que sus progenitores, pero también muestran menor resistencia al doblado que estos. Las correlaciones y los efectos pleiotrópicos de los QTL pueden explicar esto: las líneas fueron seleccionadas para reducir la altura, pero en paralelo, al parecer, se seleccionaron involuntariamente tallos con menor resistencia al doblado.

Otras posibles relaciones que nos interesan son las que puedan darse entre la resistencia física al doblado y la producción. En este sentido, el diámetro de los tallos está positivamente correlacionado con el peso de las panículas (y, en menor grado, con el peso de los granos); esto siempre es así en la población J, mientras que en las subfamilias de MS la correlación deja de ser significativa en

algún ambiente. Esta correlación se ve reflejada también, pero no en todos los casos, en el peso total en F2. En F3, sin embargo, lo que se observa es que el diámetro está negativamente correlacionado con el número de panículas (y, como consecuencia, con el peso total); pero creemos que esto indica, más que la existencia de una relación real entre ambos caracteres, que el método de medida del diámetro en F3 fue una función del número de vástagos. Por lo tanto, parece que la selección de plantas con tallos más gruesos no repercutiría negativamente sobre la producción (más bien favorecería un mayor peso de las panículas). En concordancia con esta correlación, encontramos algunas regiones cromosómicas en las que se localizan QTLs de diámetro y de Ppan, con efectos positivos del mismo alelo sobre ambos caracteres: Diam1.1 y Diam12.1 en la subfamilia B, y Diam3.3 en la subfamilia C. Ni el porte ni la resistencia al doblado muestran correlaciones claras con los parámetros de producción considerados; esto se ve reflejado en que pocos de sus QTLs se localizan en las mismas regiones que los caracteres de producción y no siempre tienen los mismos efectos en el fenotipo.

5.6. Maduración

En el desarrollo de variedades comerciales es importante ajustar la fecha de maduración a las condiciones ambientales y de cultivo particulares a las que van destinadas. La duración del ciclo de cultivo hasta la maduración completa del grano de arroz es la suma de varias etapas: la etapa vegetativa (desde la germinación de la semilla hasta el final del ahijamiento), la etapa reproductiva (desde el inicio de la formación de las panículas hasta la floración-emergencia (espigado) y antesis- y fecundación de las flores), y la etapa de maduración (que incluye el llenado y maduración del grano). La mayoría de los trabajos realizados hasta el momento se han centrado en el estudio de la fecha de floración y la sensibilidad al fotoperiodo; pero pocos estudios han analizado el control genético de la etapa final de la maduración propiamente dicha (Li *y col.*, 1995; Xiao *y col.*, 1995, 1996, 1998; Yano *y col.*, 1997; Doi *y col.*, 1998; Lin *y col.*, 1998; Xiong *y col.*, 1999; Thomson *y col.*, 2003; Mei *y col.*, 2003, 2005; Septiningshi *y col.*, 2003; Kwon *y col.*, 2008; Zhu *y col.*, 2008). Como es de esperar, los trabajos que han estudiado la fecha de floración y la de maduración han encontrado una alta correlación entre ambos caracteres; del mismo modo, varios de los QTLs que controlan la fecha de maduración corresponden a los que determinan el momento de la floración (coincidiendo además con la ubicación de genes de susceptibilidad

al fotoperiodo), si bien algunos afectan exclusivamente a la maduración (Xiao y col., 1996, 1998; Septiningsih y col., 2003). Los momentos de floración (datos no mostrados) y maduración en los parentales utilizados en este trabajo, así como las observaciones en otras variedades, demuestran que en el intervalo de tiempo transcurrido entre la floración y la maduración fisiológica (lo que hemos denominado llenado del grano) actúan componentes independientes de los mecanismos genéticos que controla la floración: entre las variedades implicadas en este estudio, podemos destacar el caso de la línea Z9, cuya floración es considerablemente más tardía que la del resto de germoplasma considerado; sin embargo, su fase de llenado es la más breve, 35 días, en contraste con los 51 de Marjal, pero ambas variedades completan la maduración al mismo tiempo. Otro ejemplo lo encontramos al comparar Leda y Senia, que presentan igual fecha de floración, pero Leda tarda 9 días más en llenar el grano. En este trabajo nos hemos fijado en la duración del ciclo completo, ya que a nivel práctico éste es el momento de la siega, independientemente de la duración de cada una de las fases del ciclo. Además, evaluar la fecha de floración requiere mucho tiempo y observaciones repetidas. Sin embargo, sí se suele considerar que una fase de maduración prolongada favorece una mayor producción por permitir el correcto llenado de los granos de arroz; por ello, acortar la fase vegetativa hasta la floración puede ser también un objetivo de mejora de interés.

En las dos poblaciones estudiadas, la maduración muestra una alta heredabilidad en sentido amplio, tanto en F2 como en F3, indicando una importante contribución del componente genético a la variación del carácter. Sin embargo, en la expresión de los QTLs de la población MS, se pone de manifiesto una cierta influencia del ambiente, pues existen cuatro QTLs cuya significación es muy inferior en balsetas (o son incluso indetectables), mientras que otro sólo se detecta en esas condiciones. El ANOVA también muestra diferencias significativas entre los ambientes estudiados, pero sólo en la población MS (y en los testigos correspondientes). Por otra parte, la población J fue más tardía que la MS tanto en las balsetas como en F3, pero ambas F2 en campo no difieren significativamente. Creemos que este comportamiento particular de la población MS es debido a la parcela que fue cultivada en F2, que como se ha explicado estuvo sometida a unas condiciones de temperatura y humedad especialmente altas, y que, entre otros efectos, provocaron un retraso en la maduración (como ocurrió con Senia). Curiosamente, se observó que en este y otros caracteres (longitud de la hoja

bandera, dimensiones del grano y tamaño medio de la perla) Senia muestra una conducta diferente según se encuentren junto a la población J o la población MS; en este caso las plantas testigo desarrolladas junto a MS son las que tardan más en madurar. No hemos encontrado ninguna característica de las plantas circundantes (entre los caracteres considerados en este trabajo) que justifique este efecto.

En los parentales masculinos de las dos poblaciones, la duración del ciclo hasta la maduración es similar, y algo más larga que la del parental femenino; sin embargo, al menos en la población MS, los QTLs confirman que tanto el padre como la madre aportan alelos capaces de acortar el ciclo de cultivo. Si nos fijamos en la fase de floración, ambas poblaciones analizadas son similares; sin embargo, en lo referente a la fase de llenado, la familia J manifiesta una mayor duración, coincidente con lo prolongada que es ésta en Jsendra (que, a su vez, tarda en madurar más que sus progenitores).

Respecto a la comparación de las subfamilias de MS, se observa que B es la más temprana en las dos generaciones y ambientes, aunque sólo en F3 esta diferencia es significativa. En cambio, los resultados del análisis de QTLs muestran bastante coincidencia en el control genético de este carácter entre las subfamilias, ya que la mayoría actúan de manera similar en al menos dos de las tres subfamilias (algunos, como Madur5.1, Madur7.1 y Madur10.1, no es posible detectarlos en una tercera por no haber segregación de los marcadores). Por otra parte, algunos de los QTLs son bastante estables, pues se detectan en las dos generaciones, con efectos aditivos que pueden llegar a determinar diferencias de hasta 4 días en la fecha final de maduración; sin embargo, el valor de la dominancia es considerable en alguno de ellos. Casi todos los QTLs encontrados en este estudio se localizan en regiones cromosómicas en las que se sitúan QTLs de fecha de floración en trabajos anteriores (tabla 25). Cabe destacar algunas de estas coincidencias: Madur3.3 y Madur6.1 parecen corresponder a los QTL de fecha de floración *Hd6* y a *Hd1*, *respectivamente*; ambos han sido clonados y son ortólogos de genes clave en la regulación del desarrollo floral en *Arabidopsis*: *Hd6* codifica para la subunidad α de la proteína quinasa 2 (CK2; Takahashi y col., 2001), que en *Arabidopsis* interacciona con una de las principales proteínas del ciclo circadiano (CCA1; Sugano y col., 1998, 1999); mientras que *Hd1* (alélico de *Se1*, el principal gen que determina la sensibilidad al fotoperiodo en arroz) corresponde

al gen *constans* (*Co*) de *Arabidopsis* (Yano y col., 2000). En dicha especie, la regulación de la iniciación floral ocurre mediante señales relativas al ciclo de luz/oscuridad, transmitidas del ciclo circadiano al factor de transcripción *Co*, que a su vez activa los genes de identidad floral. En arroz, *Hd1* podría actuar como *Co*, para activar la floración a partir de los cambios ambientales (Yano y col., 2001). También Madur1.1 coincide con Dth1.1: este QTL consiste en 2 grupos de 6 genes candidatos, que actúan como dos QTLs estrechamente ligados, y que interactúan dando lugar a una variación transgresiva en la fecha de floración (Maas y col., 2010). Y por último, Madur10.1, uno de los QTLs con efectos más destacados en nuestro estudio, coincide con el gen *Ef1* (*early flowering 1*): este gen puede acortar el tiempo de iniciación y de desarrollo de la panícula, e incrementar además la tasa de crecimiento de hojas y entrenudos, acortando así el periodo de elongación (Saito y col., 2009).

Sólo el QTL Madur5.1 coincide con otro encontrado por Xiao y col. (1996) que parece controlar la fase de maduración con independencia del periodo de floración. Los resultados acumulados indican que, la suma de la etapa de crecimiento vegetativo básico y la de floración propiamente dicha, tiene mayor peso sobre la duración del ciclo completo que la fase madurativa. Como se ha mencionado anteriormente, las observaciones en las variedades progenitoras señalan que existen diferencias en la etapa de llenado que podrían verse reflejadas en un análisis genético; pero para ello habría que considerar la duración de esta etapa por separado: al analizar la duración completa del ciclo se ponen de manifiesto casi exclusivamente los genes que afectan a la fecha de floración (un periodo, además, bastante más prolongado que el llenado; tal diferencia de magnitud puede ser también un factor para el mayor peso relativo de la primera etapa en la determinación de la duración total).

Por otra parte, el hecho de que muchos de estos QTLs de floración que afectan a la duración del ciclo completo se detecten en más de una subfamilia, en otras poblaciones procedentes de cruzamientos inter- e intra-específicos, y de que varios sean estables en más de una generación y ambiente, sugiere que son bastante robustos y podrían ser candidatos para su introducción en un programa de MAS. Sin embargo, hay que considerar previamente que existen importantes interacciones entre los QTLs de floración, como atestiguan diversos estudios (Yamamoto y col., 2000; Lin y col., 2000; Liu y col., 2007; Saito y col., 2009), y

justificadas por el complejo control genético de este fenómeno, que debe integrar señales ambientales y factores genéticos endógenos para regular que la floración coincida con las condiciones ambientales apropiadas para que la reproducción sea eficaz (Yano y col., 2001; Izawa y col., 2003; Tsuji y col., 2008).

En los casos en que existen correlaciones significativas entre la maduración y los caracteres de elongación (en la población J y en las subfamilias MS-B y -C), éstas son negativas. Estos resultados contrastan con los obtenidos en otros estudios, que señalan que un inicio más temprano de la floración va acompañado de una parada también anterior del desarrollo vegetativo (y de la elongación de los tallos). La correlación negativa encontrada en nuestro trabajo puede apuntar a un efecto del periodo de llenado más que al efecto de la fase de floración. Por otro lado, en la población J parece que un periodo de maduración más largo favorece un aumento en la producción total (y en el peso de las panículas), de las plantas desarrolladas en campo (incluyendo la generación F3). Podría pensarse que este incremento esté relacionado con un mejor llenado de los granos a causa de un periodo de maduración más prolongado, pero sin embargo P100 no muestra correlación con este carácter: más bien tendría que ver con un mayor número de granos.

5.7. Dimensiones del grano

La selección de las dimensiones del grano suele realizarse desde las primeras generaciones en la selección genealógica, pues se considera un carácter de alta heredabilidad. Nuestro trabajo coincide con esta observación: las estimas de H^2 son particularmente altas para la longitud y la relación L/A, y del orden de las que se han obtenido en otras poblaciones en el Departamento del Arroz del IVIA (Bretó, comunicación personal). El control genético de estos caracteres parece, pues, ser similar en el germoplasma *japonica* y en las variedades *indica* (o en cruzamientos intraespecíficos), que generalmente se han utilizado en numerosos trabajos previos. En la anchura del grano, la contribución de la varianza genotípica es algo menor, sobre todo en las subfamilias F2MS-B y -C. En general, pues, se esperaría una buena respuesta a la selección de estos caracteres. Sin embargo, no se ha podido calcular la heredabilidad en sentido estricto y, por tanto, qué proporción de la varianza es aditiva y puede quedar fijada en la selección de líneas puras. Pero en el análisis de QTLs de la población MS,

los efectos dominantes parecen, en conjunto, menos importantes que los aditivos; sólo en la subfamilia MS-B encontramos sobredominancia en alguno de los QTLs más significativos.

El escaso efecto del ambiente sobre el tamaño del grano se ve también reflejado en el ANOVA, donde los valores de R^2 indican que el factor localidad explica poco, o nada, del porcentaje de variación de estos caracteres en las dos poblaciones (sólo en las subfamilias B y C son algo mayores, coincidiendo con los menores valores de heredabilidad); de hecho, no se han encontrado diferencias significativas en ninguno de los tres parámetros entre los ambientes comparados, con la excepción de la subfamilia B, que presentó granos más cortos y estrechos en balsetas. El estudio de QTLs también apoya la escasa influencia ambiental: por una parte, los QTLs detectados explican la mayor parte de la variación de los caracteres (con la excepción de la anchura del grano en la subfamilia MS-C); y, por otra, la mayoría de los que tienen un alto coeficiente de determinación se expresan por igual en los dos ambientes estudiados. Sin embargo, tal como se ha comentado en la discusión de la maduración, existen diferencias entre las plantas control crecidas junto a cada una de las poblaciones (los granos producidos junto a la población J fueron mayores, y principalmente más anchos, que los producidos junto a MS). Por el contrario, se puede observar que la relación L/A es un parámetro más constante entre los testigos, en los dos ambientes y años, que sus componentes longitud y anchura; particularmente la anchura del grano parece ser el factor más afectado por las variaciones ambientales, de acuerdo con su mayor varianza ambiental.

En la tabla 8 se observa que (Marjal x Senia) tiene los granos más largos y estrechos que Jsendra y, de acuerdo con ello, las poblaciones F2 derivadas de ambos parentales se comportan siguiendo el mismo patrón, tanto en campo como en las balsetas: los granos de la población J son más redondeados que los de la población MS. Pero se encuentran algunas diferencias entre las subfamilias de MS: los granos de MS-B son más cortos, especialmente en balsetas, mientras que los de MS-A son más estrechos en campo, lo cual afecta a la relación L/A, siendo en los dos ambientes la subfamilia A la de granos más alargados y MS-B la de granos más redondeados. Estas diferencias pueden explicarse, al menos en parte, por algunos QTLs de efectos importantes encontrados. En lo que se refiere a la longitud del grano, L3.1 (que se sitúa en la región en la que se ha encontrado

GS3, el principal QTL responsable de este carácter en trabajos anteriores (tabla 25)), se detecta sólo en las subfamilias B y C, con efectos similares, y explicando respectivamente el 52 y el 35% de la variación; el alelo de Senia en estas subfamilias aumentaría la longitud de los granos, mientras que el alelo de Marjal, presente en MS-A, tendría el mismo efecto que el alelo materno y no se detecta. En estudios anteriores se ha encontrado que este QTL tiene también un efecto menor sobre la anchura del grano, pero no lo encontramos en nuestras poblaciones. También L3.2 tiene una segregación altamente significativa, con efectos similares, en MS-A y -C, pero no en -B. Por el contrario, el QTL L1.1 resulta altamente significativo sólo en MS-B, y no en -A y -C. Destacan también, para la longitud, los QTLs L2.1, L5.1, L11.1 y L12.3, que se ponen de manifiesto sólo en una de las tres subfamilias, algunos de los cuales coinciden con QTLs encontrados por otros autores (tabla 25). Por último, cabe mencionar que los que señalamos como L12.1 y L12.2, significativos en MS-A y -B respectivamente, podrían en realidad corresponder a un único QTL, situado en la región en la que Li y col. (2004a) detectaron un QTL que afecta a L y a L/A. En nuestro caso, no se ha podido analizar como un único intervalo dada la falta de polimorfismo en las tres subfamilias.

Respecto a la anchura de los granos, cabe mencionar en primer lugar a A5.1, que coincide con un QTL de gran efecto identificado en trabajos previos, GW5 (tabla 25); en la población MS se detecta en las subfamilias -A y -B, explicando respectivamente el 36 y el 20% de la variación observada. Pero en este estudio encontramos otras regiones de alta significación para este carácter: A1.2 (que es el único QTL que se detecta, y con similares efectos, en las tres subfamilias); A2.1 y A5.2, que sólo podemos detectar en MS-B; finalmente, A3.1, que sólo afecta a este carácter en esta misma subfamilia; aunque en la misma región se sitúa L3.2, que afecta a la longitud de los granos en las otras dos subfamilias. De éstos, sólo A2.1 coincide con estudios anteriores. También podemos destacar que, en concordancia con que el parental femenino (Z9 x Leda) tiene un grano más corto y más estrecho que el parental masculino (Marjal x Senia), la mayoría de los efectos aditivos de L y A son negativos; es decir, el alelo femenino contribuye a disminuir las dimensiones.

Como era de esperar, son pocos los QTLs de L/A en la población MS que no coinciden con intervalos implicados en el control de L o A: únicamente L/A2.1 y

5.2, aunque son regiones de baja significación. Si bien, lógicamente, L/A está muy correlacionado con L y A, se observa que estas correlaciones son mayores con la longitud que con la anchura. Esto puede ser debido, en parte, a una cuestión de escala (pues las medidas de L son siempre mayores que las de A); pero el análisis de QTLs parece indicar que también puede haber un componente genético implicado, pues hay ocho QTLs en que es exclusivamente L el componente que afecta significativamente a la variación de L/A, frente a sólo tres en que es A el principal determinante. Por otro lado, las dimensiones mayores del grano, L y A, no muestran correlación entre ellas en las subfamilias de MS, y sólo en las balsetas en la población J. En concordancia con ello, apenas encontramos QTLs que influyan simultáneamente sobre L y A: sólo ocurre en tres intervalos de la subfamilia A, dos de los cuales resultan también significativos para L/A. Podría pensarse que la relación entre las diferentes dimensiones del grano de arroz (incluyendo el grosor, que no se ha tenido en cuenta en esta tesis, pero sí en algunos otros estudios) pueden estar determinadas por una serie de genes o QTLs que afectan al desarrollo conjunto del grano, por lo cual cabría esperar efectos pleiotrópicos sobre L y sobre A. Por el contrario, como se ha mencionado, la mayoría de los QTLs identificados en este trabajo sólo afectan a una de las dos dimensiones. De igual modo, el estudio funcional y molecular de tres QTLs mayores para L y para A muestran que están implicados procesos distintos: el gen candidato *GS3*, que codifica una proteína putativa con un dominio transmembrana, presenta mutaciones “nonsense” en todas las variedades de grano largo ensayadas (tanto *indica* como *japonica*), lo cual sugiere que este gen puede funcionar como un regulador negativo del desarrollo del grano (Fan y col., 2006). Por otra parte, *GW2* y *GW5* están relacionados con la proteólisis mediada por la ubiquitina, de manera que la pérdida de función de *GW2* incrementa el número de células en las glumas de la flor, lo que a su vez resulta en una mayor tasa de llenado y en granos más anchos (Song y col., 2007); mientras que se encuentra una delección en *GW5* en todas las variedades de grano ancho consideradas en el trabajo de Weng y col. (2008), que podría estar asociada al proceso de domesticación de la subespecie *japonica*.

Como es lógico y ha quedado demostrado con los resultados de trabajos anteriores (Yoshida y col., 2002; Xie y col., 2006; Yoon y col., 2006; Liu y col., 2010), el peso del grano (en nuestro caso, determinado como el peso de 100 granos) depende en gran medida de su tamaño; las correlaciones indican que la

anchura de los granos es el parámetro que más influye en su peso las dos poblaciones consideradas, si bien en la subfamilia MS-B las correlaciones de P100 con L y con A son de escasa significación. Estas correlaciones se ven reflejadas en los QTLs detectados, pues hay seis intervalos en los que se localizan QTLs que afectan de forma muy significativa también a las dimensiones del grano (P100-1.2, 2.1, 3.2, 5.1, 5.2 y 12.1); estos intervalos, junto con L3.1, son, pues, las regiones a tener en cuenta en la selección del tamaño del grano.

Entre las correlaciones interesantes, también encontramos que en la determinación de la longitud del grano parecen participar procesos relacionadas con el alargamiento general de la planta, ya que L está altamente correlacionada con todos los caracteres de elongación, en especial con la longitud de la panícula y de la hoja bandera; en cambio, no se observa ninguna relación entre la elongación y la anchura del grano. Algunos QTLs ayudan a explicar estas coincidencias: en la parte distal del cromosoma 3 en la subfamilia MS-C se localizan QTLs importantes para L y L/A que coinciden con QTLs de altura y longitud de tallo, panícula y entrenudo; en la subfamilia -A, el QTL L/A2.1 se localiza en la misma región que un QTL importante para Lpan; y en la subfamilia -B, L12.1 coincide con Lpan12.1, siendo ambos de gran significación.

5.8. Perlado del grano

La presencia de granos perlados se considera una característica varietal de alta heredabilidad, aunque se sabe que está influenciada por las condiciones climáticas (Juliano, 1985) y de cultivo (Webb, 1991); estas condiciones pueden afectar tanto a la incidencia o porcentaje de granos perlados, como al tamaño de las perlas. Wan *et al.* (2005) observaron una heredabilidad de 0.83 mientras que en estudios previos del IVIA con varias poblaciones (Bretó, comunicación personal) se han encontrado heredabilidades en sentido amplio entre 0.30 y 0.99 (aunque en algunos casos, la h^2 ha alcanzado el 0.98), tanto para el porcentaje como para el tamaño de perla. Estas dos medidas del perlado están, en general, estrechamente relacionadas, de modo que a mayor proporción de granos con perla, mayor es el tamaño de ésta. También la posición de la perla es un parámetro que algunos autores consideran importante, distinguiendo principalmente entre perla central y ventral, aunque Ueda y Ota (1961)

distinguieron hasta 5 tipos. En este trabajo no se ha considerado este factor, pues la perla de las líneas parentales es, en todos los casos, central.

Lo que se observa en este trabajo es que, en concordancia con que las líneas parentales son perladas o muy perladas, en las dos poblaciones analizadas se ha obtenido una alta proporción de granos perlados; es más, ningún individuo ha resultado no perlado en ninguna de las combinaciones genotipo-ambiente. Es destacable el hecho de que la línea materna (Z9 x Leda) sea moderadamente perlada (66% y $TMp = 0.93$), pues sus progenitores Z9 y Leda resultaron cristalinos en las condiciones del análisis en 2005 (aunque estudios anteriores muestran una presencia marginal de perla, que en Leda puede alcanzar el 20%, y en Z9 el 40%). Recordemos que (Z9 x Leda) presenta 4 marcadores que indican germoplasma de origen desconocido (aunque fijado en la línea); pues bien, en 3 de estas regiones encontramos QTLs implicados en el control del perlado, de lo que se deduce que fueron fijadas al seleccionar una línea perlada.

Las correlaciones entre los parámetros porcentaje y tamaño de perla han resultado positivas y altamente significativas en todos los genotipos y en los dos ambientes, con la excepción de la subfamilia F2MS-B (en especial, en las plantas cultivadas en las balsetas); es decir, la presencia de perla y su tamaño parecen dos fenómenos desacoplados en este genotipo. El análisis de QTLs puede explicar esto, pues en esta subfamilia dos de los QTLs más significativos sólo afectan a uno de los dos caracteres: se trata de $TMp1.1$, que contribuye un 42% a la variación, y de $Per18.1$, con un R^2 del 30%. En F2MS-B encontramos otros 3 QTLs de efectos importantes, pero éstos afectan de manera paralela a las dos medidas de perlado (además, muestran una importante dominancia en el tamaño de la perla). En todos estos QTLs (excepto $TMp1.1$), el alelo paterno es de procedencia desconocida y aumenta el perlado; es decir, el polen de origen extraño procede de variedades o líneas muy perladas, y puede explicar que la línea (Marjal x Senia) presente un grado de perlado superior al del parental perlado, Senia. Por otra parte, en esta subfamilia, los 4 QTLs principales para cada carácter explican toda la variación encontrada (y aún se han identificado otros, de baja significación).

Los QTLs de efectos más significativos son distintos en cada subfamilia analizada, con la excepción de la región del cromosoma 3 que contiene a $Per13.2$ y

TMp3.2; en esta zona, el efecto sobre cada carácter es diferente según el alelo paterno: en la subfamilia F2MS-B, el alelo es b y disminuye el porcentaje y el tamaño significativamente (junto con una dominancia negativa considerable), mientras que en la subfamilia -C, el alelo es t (m o s), y su efecto aditivo aumenta el tamaño, pero no el porcentaje (aunque también hay una fuerte dominancia negativa sobre los dos parámetros); en la subfamilia A el alelo es e, pero su efecto es similar al alelo materno y no se detecta ningún QTL.

Por otra parte, tanto en F2MS-A como en -C, dos de los QTLs de mayor efecto actúan de manera similar sobre los dos parámetros del perlado. También se encuentra un QTL en cada subfamilia cuyos efectos aditivos parecen ser de signo opuesto según el carácter (los QTLs 3.1 en -A y 3.2 en -C), aunque, en realidad, el efecto principal en estas regiones es una dominancia muy marcada. Finalmente, en cada una de estas subfamilias hay un QTL de baja significación que sólo afecta a uno de los índices de perlado. En conjunto, en las subfamilias A y C, los signos de la aditividad están mezclados, y los QTLs detectados explican entre un 50 y un 70% de la variación encontrada; pero es posible que el componente genético de la variación del perlado sea superior, pues no todas las regiones que parecen implicadas en el control del perlado presentan marcadores segregantes en todas las subfamilias.

Respecto a los efectos ambientales, encontramos que no son desdeñables en lo referente al tamaño de la perla, tanto en la familia F2J como en la F2MS (aunque en este caso, las diferencias significativas sólo se encuentran en la subfamilia B); la influencia del ambiente es de diferente signo según los genotipos: en F2J, las plantas cultivadas en balsetas tuvieron perlas mayores que las cultivadas en campo (también tuvieron un mayor porcentaje de perlado, pero la diferencia no fue significativa); sin embargo, en la subfamilias F2MS-B (y en menor grado, en la -C), el cultivo en balsetas disminuye tanto el porcentaje como el grado de perlado. También se observa un importante efecto ambiental en los testigos, al igual que con las dimensiones del grano y la maduración: inesperadamente, las plantas de Senia cultivadas junto a F2MS mostraron una perla significativamente menor que las cultivadas junto a F2J, tanto en las balsetas como en las parcelas de campo. La existencia de efectos ambientales importantes se hace patente también en el análisis de QTLs: la mayoría de los QTLs implicados en ambos índices de perlado sólo se expresan, con bastante significación, en uno de los

ambientes estudiados, y, en algunos casos, el QTL se detecta en campo para un carácter, y en balsetas para otro. Sin embargo, ninguna de estas observaciones nos ayuda a explicar el diferente comportamiento que tiene F2MS-B según el ambiente considerado.

A pesar de los evidentes efectos ambientales, las heredabilidades en sentido amplio son elevadas en las balsetas (no tanto en campo), sobre todo para el tamaño medio de la perla; en lo que respecta al porcentaje de perlado, la heredabilidad en sentido amplio es baja en F2J (0.36). Por ello, parece que la selección para este carácter será más efectiva si se realiza en balseta que en campo (aunque algunos de los QTLs importantes no se detectan en estas condiciones de cultivo); sin embargo, teniendo en cuenta que en el análisis de QTLs se han encontrado importantes efectos dominantes en la población F2MS, no es descartable que un análisis en las siguientes generaciones demuestre que el componente aditivo, y por tanto verdaderamente heredable, no tiene demasiado peso.

Mención aparte merecen las correlaciones encontradas entre el perlado y las dimensiones del grano, especialmente su anchura (y, con los caracteres relacionados, L/A y P100), que encontramos en F2J y en las subfamilias F2MS-A y -C. Coincidiendo con los resultados obtenidos por otros autores (Yoshida *y col.*, 2002; Wan *y col.*, 2005), observamos que los granos más redondeados son los de mayor porcentaje y tamaño de perla. Estos autores, junto con Tan *y col.* (2000), encuentran además algunos QTLs que afectan simultáneamente a la longitud o la anchura del grano, y al perlado. En nuestro estudio, 3 de los QTLs con mayor significación sobre el perlado afectan también a las dimensiones: el alelo materno en la región L3.1 está asociado a granos más cortos y más perlados; pero en la otra región implicada del cromosoma 3 y en la región 5.1, un mayor perlado coincide a la vez con mayor anchura y con menor longitud (aunque con diferencias según las subfamilias). Estas coincidencias entre los dos grupos de caracteres favorecen la tarea del mejorador, pues en la actualidad, el mercado español está orientado bien a un grano largo y estrecho, pero cristalino, bien a un tipo de grano más corto y ancho (tipo medio o redondo), pero perlado.

Como se describió en la introducción, se esperaba encontrar un QTL de efecto principal en el cromosoma 5 (Tan *y col.*, 2000; Yoshida *y col.*, 2002), que

llegó a explicar el 70-80% de la variación en la proporción de granos con perla ventral en un cruzamiento entre dos variedades *indica*; esto estaría de acuerdo con observaciones de autores que afirman que el perlado es un carácter de control monogénico (Nagai, 1958) y dominante (Nadaf y col. (1993), que también consideran sólo perla ventral). Sin embargo, otros autores encuentran que el perlado está controlado por varios QTLs de efectos menores, destacando una región del cromosoma 8, que explica algo más del 20% del porcentaje de perlado, y entre un 20 y un 40% del tamaño de la perla, en dos cruzamientos *indica* x *japonica* (He y col., 1999; Wan y col., 2005). En nuestro estudio, la región esperada en el cromosoma 5 corresponde a los QTLs Perl5.1 y TMp5.1, que únicamente se detecta en la subfamilia F2MS-A, y que sólo justifica el 15 y el 18% de la variación en los parámetros de perlado en esta población; es posible que la escasa influencia de esta región en nuestras poblaciones se deba al hecho de que la segregación que encontramos se refiere a la presencia de perla en posición central. En esta subfamilia, los QTLs Perl2.1 y TMp2.1 tienen una mayor determinación (21 y 26%, respectivamente). En F2MS-C destacan las regiones 3.2 (con R^2 de 24 y 51%, que también detectan He y col., 1999, con un 9% para el porcentaje de granos perlados) y 7.1 (con 23 y 19%, que también explica el 9% de la variación en el trabajo de Tan y col., 2000); mientras que en -B, hay varios QTLs con R^2 superiores al 30%: TMp1.1 alcanza el 42%, y TMp6.1, el 35%; este último coincide con otro QTL encontrado por Tan y col. (2000) para la presencia de perla central, con un R^2 del 7%. Respecto al cromosoma 8, es probable que los QTLs 8.1 y 8.2 (que aparecen separados por la falta de marcadores intermedios) sean uno sólo, que coincidiría con el encontrado por los autores anteriormente mencionados. Finalmente, cabe mencionar que el gen candidato para determinar prioritariamente la presencia de perla (la PPKK citosólica: Kang y col., 2005), corresponde a la localización de Perl5.2, pero se trata de un QTL de muy baja significación, encontrado en sólo una de las subfamilias. Pero otros de los QTLs más significativos en nuestro estudio no han sido encontrados en poblaciones analizadas por otros autores. Esta tesis pone de manifiesto que, en el germoplasma que manejamos en el programa de mejora del IVIA, o al menos en nuestras condiciones de cultivo, un grupo de genes (algunos particulares) controlan la herencia del perlado, y son los que deben ser tenidos en cuenta en la selección.

Tabla 25. Comparación de los QTLs identificados con los publicados hasta el momento en el género *Oryza*. *genes mayores

| QTL | Estudios previos |
|------------------|---|
| Alt1.1 | Xiao y col.,1996; Huang y col.,1996; Zhuang y col.,1997; Moncada y col.,2001; Hittalmani y col.,2002; Li y col.,2003b |
| Alt11.1 | Mei y col.,2003 |
| Alt3.1 | Hittalmani y col.,2002 |
| Alt3.2 | Mei y col.,2003 |
| Alt3.3 | Lafitte y col.,2002 |
| Alt6.3 | Xiao y col.,1995,96; Thomson y col.,2003; Mei y col.,2003; Zhu y col.,2008 |
| Alt9.1 | Yang y col.,2006 |
| Ltallo1.1 | Yoshida y col.,2002; Hittalmani y col.,2002; Septiningsih y col.,2003; Yoon y col.,2006 |
| Ltallo1.2 | <u>altura</u> : Fukata, 1995; Cho y col.,1994; Huang y col.,1996; Wu y col.,1996; Tan y col.,1996; Koh y col.,1997; Zhuang y col.,1997; Xiao y col.,1996,1998; Yan y col.,1999; Xiong y col.,1999; Moncada y col.,2001; Ishimaru y col.,2001; Hittalmani y col.,2002; Li y col.,2003b; Septiningsih y col.,2003; Thomson y col.,2003; Kashiwagi e Ishimaru, 2004; Zhu y col.,2008 |
| Ltallo4.1 | <u>altura</u> : Yoshida y col.,2002; Yoon y col.,2006 <u>Ltallo</u> : Cho y col.,1994; Xiong y col.,1999; Moncada y col.,2001; Yamamoto y col.,2001; Kobayashi y col.,2003; Thomson y col.,2003; Septiningsih y col.,2003; Hittalmani y col.,2003; Yoon y col.,2006; Cho y col.,2007 |
| Lpan1.1 | Mei y col.,2003; Mei y col.,2005 |
| Lpan1.2 | Xiao y col.,1998; Kobayashi y col.,2003; Cho y col.,2003; Hittalmani y col.,2002; Septiningsih y col.,2003; Thomson y col.,2003; Cho y col.,2007; Zhu y col.,2008; Liu y col.,2008 |
| Lpan12.1 | Li y col.,2006 |
| Lpan3.2 | Hittalmani y col.,2002 |
| Lpan3.4 | Zhu y col.,2008 |
| Lpan9.1 | Xiao y col.,1995, 1996; Koh y col.,1997; Xiao y col.,1998; Septiningsih y col.,2003; Thomson y col.,2003; Cho y col.,2003; Li y col.,2006 |
| Lhoja1.2 | Mei y col.,2003 |
| Lhoja3.2 | Mei y col.,2003 |
| Pestot1.1 | Septiningsih y col.,2003; Brondani y col.,2002 |
| Pestot1.2 | Xiao y col.,1998; Septiningsih y col.,2003; Cho y col.,2007 |
| Pestot1.3 | Zhuang y col.,1997 |
| Pestot3.2 | Brondani y col.,2002 |
| Pestot3.3 | Li y col.,1997; Thomson y col.,2003 |
| Pestot6.2 | Suh y col.,2005 |
| Pestot8.1 | Septiningsih y col.,2003 |
| Npan1.1 | Septiningsih y col.,2003; Tian y col.,2006 |
| Npan1.3 | Zhuang y col.,1997; Yan y col.,1998b; Yan y col.,1999; Liao y col.,2001; Hittalmani y col.,2002; Septiningsih y col.,2003 |
| Npan3.2 | Hittalmani y col.,2003 |
| Npan6.1 | Moncada y col.,2001; Lafitte y col.,2002; Cho y col.,2003 |
| Npan7.1 | Li y col.,2006 |
| Npan8.1 | Hemamalini y col.,2000; Brondani y col.,2002 |

| QTL Estudios previos | |
|-----------------------------|---|
| Porte8.1 | <i>Li y col.,1999</i> |
| Dobl11.1 | <i>pr111^a; Kashiwagi e Ishimaru (2004)</i> |
| Madur1.1 | <i>floración: Kohn y col.,1997; Xiao y col.,1998; Doi y col.,1998; Maheswaran y col.,2000; Cai y Morishima, 2002; Thomson y col.,2003</i> |
| Madur1.2 | <i>floración: Thomson y col.,2003; Mei y col.,2003; Mei y col.,2005; Zhu y col.,2008</i> |
| Madur2.2 | <i>floración: Lin y col.,1998; Maheswaran y col.,2000; Ishimaru y col.,2001; Moncada y col.,2001; Thomson y col.,2003; Septiningsih y col.,2003</i> |
| Madur3.1 | <i>maduración: Xiao y col.,1998; Venuprasad y col.,2002</i> <i>floración: Li y col.,1995; Xiao y col.,1996; Xiao y col.,1998; Yu y col.,2002b; Brondani y col.,2002; Venuprasad y col.,2002; Hittalmani y col.,2002, 2003; Li y col.,2003b; Thomson y col.,2003; Mei y col.,2003, 2005; Lanceras y col.,2004; Zhu y col.,2008</i> |
| Madur3.2 | <i>maduración: Xiao y col.,1998</i> <i>floración: Lin y col.,1995; Xiao y col.,1995, 1996; Li y col.,1995; Price y col.,1997; Xiao y col.,1998; Maheswaran y col.,2000; Moncada y col.,2001; Thomson y col.,2003; Li y col.,2003b; Yoon y col.,2006</i> |
| Madur3.3 | <i>Hd6^a; floración: Lin y col.,1998; Takahashi y col.,2001; Thomson y col.,2003; Yoon y col.,2006; Cho y col.,2007</i> |
| Madur5.1 | <i>maduración: Xiao y col.,1996</i> <i>floración: Maheswaran y col.,2000; Mei y col.,2003; Mei y col.,2005; Li y col.,2003b</i> |
| Madur5.2 | <i>floración: Cho y col.,2003</i> |
| Madur6.1 | <i>Hd1, SE1^a; maduración: Xiao y col.,1998</i> <i>floración: Yano y col.,1997; Xiao y col.,1998; Lin y col.,1998; Xiong y col.,1999; Lin y col.,2000; Maheswaran y col.,2000; Yano y col.,2000; Sreerangasamy y col.,2000; Xing y col.,2001; Ishimaru y col.,2001; Cai y Moroshima, 2002; Kojima y col.,2002; Mei y col.,2003; Cho y col.,2003; Yoon y col.,2006; Cho y col.,2007</i> |
| Madur10.1 | <i>maduración: Xiao y col.,1998</i> <i>floración: Xiao y col.,1996; Maheswaran y col.,2000; Mei y col.,2003b; Li y col.,2003; Cho y col.,2003; Thomson y col.,2003; Zhu y col.,2008; Kwon y col.,2008</i> |
| Madur12.1 | <i>maduración: Xiao y col.,1996; Xiao y col.,1998</i> <i>floración: Xiao y col.,1996; Xiao y col.,1998; Mei y col.,2005</i> |
| L1.1 | <i>Yoshida y col.,2002; Aluko y col.,2004</i> |
| L1.2 | <i>Huang y col.,1997</i> |
| L2.1 | <i>Rabiei y col.,2004; Wan y col.,2005</i> |
| L3.1 | <i>GS3^a; Li y col.,1995; Huang y col.,1997; Redoña y Mackill, 1998; Tan y col.,2000; Xing y col.,2001; Rabiei y col.,2004; Aluko y col.,2004; Li y col.,2004a; Wan y col.,2005; Fan y col.,2006</i> |
| L5.1 | <i>Rabiei y col.,2004</i> |
| L12.1-12.2 | <i>Li y col.,2004a</i> |
| A1.1 | <i>Huang y col.,1997</i> |
| A2.1 | <i>GW2^a; Rabiei y col.,2004</i> |
| A2.2 | <i>Huang y col.,1997; Jiang y col.,2005; Song y col.,2007</i> |
| A2.3 | <i>Redona y Mackill, 1998</i> |
| A5.1 | <i>GW5^a; Tan y col.,2000; Yoshida y col.,2002; Rabiei y col.,2004; Wan y col.,2005</i> |
| A10.1 | <i>Huang, y col.,1997</i> |

| QTL | Estudios previos |
|--------------|---|
| L/A1.1 | <i>Aluko y col.,2004</i> |
| L/A1.2 | <i>Jiang y col.,2005</i> |
| L/A2.1 | <i>GW2^a; Huang y col.,1997; Jiang y col.,2005; Wan y col.,2005</i> |
| L/A3.1 | <i>Xing y col.,2002; Rabiei y col.,2004; Wan y col.,2005</i> |
| L/A5.1 | <i>Tan y col.,2000; Xing y col.,2002; Rabiei y col.,2004; Wan y col.,2005</i> |
| L/A10.1 | <i>Jiang y col.,2005</i> |
| L/A11.1 | <i>Yoon y col.,2006</i> |
| L/A12.1-12.2 | <i>Li y col.,2004a</i> |
| PerI3.2 | <i>He y col.,1999;</i> |
| PerI5.1 | <i>Tan y col.,2000</i> |
| PerI5.2 | <i>Kang y col.,2005</i> |
| PerI6.1 | <i>Tan y col.,2000; Li y col.,2003c</i> |
| PerI7.1 | <i>Tan y col.,2000</i> |
| PerI8.1 | <i>He y col.,1999; Wan y col.,2005</i> |
| PerI11.1 | <i>Yoon y col.,2006</i> |



6. Conclusiones

6. Conclusiones

A. Análisis cuantitativo y selección

- A1. El potencial de desarrollo de las plantas es, en general, mayor en campo que en balsetas, pero también lo es la varianza ambiental. Los caracteres menos afectados por las condiciones de cultivo en las que se desarrollaron las plantas son la fecha de maduración y las características del grano (dimensiones, peso y perlado).
- A2. Atendiendo a las heredabilidades, se confirma que la selección en F2 en balsetas, como se viene haciendo en el Departamento del arroz del I.V.I.A., es más efectiva que la selección en campo para la mayoría de los caracteres; sólo para el peso de panícula, el diámetro del tallo, el porte y la relación L/A, las condiciones de cultivo en campo serían más favorables. Además, las balsetas son un ambiente, en general, más homogéneo que distintas parcelas de campo.
- A3. Los caracteres en los que se espera que la selección sea más efectiva, dada su mayor heredabilidad, son los relacionados con la longitud (altura, longitud del tallo y longitud de panícula), en los que se manifiesta una importante contribución del componente genético aditivo a la varianza. También destacan por su H^2 las dimensiones, el perlado y el peso de los granos, así como el peso de la panícula, la maduración, el porte y la resistencia al doblado; en este último carácter, sin embargo, la varianza aditiva es nula, y en el resto no se ha podido estimar.
- A4. Entre los caracteres para los que se aplicó selección sobre las plantas F3, ésta resultó efectiva para reducir la altura, y aumentar la longitud y el grosor de los entrenudos basales en las dos poblaciones; y también para aumentar el número de panículas y la resistencia al doblado en la población J.
- A5. Jsendra como parental masculino favorece una mayor resistencia al doblado, mientras que la descendencia de la línea de Marjal x Senia produce plantas con panículas y hojas más largas, con granos de mayor tamaño (sobre todo en cuanto a la longitud) y más perlados, así como con un porte más compacto y un ciclo de maduración más corto.

B. Mapa de ligamiento y detección de QTLs en la población MS

- B1. El análisis demostró que la población MS consiste en la mezcla de tres poblaciones, emparentadas pero no idénticas, a las que hemos denominado subfamilias A, B, y C, y que se han considerado como tales en la detección de QTLs.
- B2. En algunas regiones cromosómicas se concentran la mayor parte de los marcadores polimórficos, destacando los cromosomas 1, 2, 3 y 6. En cambio, en otras, y especialmente en la subfamilia A, apenas se encuentran regiones segregantes. La coincidencia con otros trabajos en el caso de los cromosomas 4 y 9 indica que éstos contienen genoma altamente conservado en la subespecie *japonica*, y pueden determinar algunas de sus características particulares.
- B3. Las subfamilias A y C son las más similares tanto genéticamente como en el comportamiento agronómico. Consecuentemente, se han detectado un mayor número de QTLs que coinciden en las subfamilias A y C, que entre éstas y la subfamilia B. Esta última es, además, la que acumula la mayor parte del germoplasma de origen desconocido, y la que presenta mayor número de polimorfismos.
- B4. A pesar del reducido tamaño poblacional de las subfamilias, se han localizado algunos QTLs importantes que se expresan simultáneamente en las tres, y que coinciden en muchos casos con otros detectados en trabajos anteriores.

C. Implicaciones generales

- C1. Las correlaciones entre caracteres y el hecho de que los principales QTLs de longitud coinciden con los de producción, diámetro, resistencia al doblado y maduración, muestran que la selección para reducir la talla de la planta (con el objetivo de reducir la susceptibilidad al encamado), puede llevar consigo una reducción de la producción (sobre todo en cuanto al peso de la panícula y del grano), del diámetro del tallo y de la resistencia al doblado, así como un retraso de la maduración.

- C2. Los caracteres de longitud están altamente correlacionados entre sí, lo que coincide con que varias regiones cromosómicas afectan a varios de ellos simultáneamente; en varios casos, estos QTLs co-localizan con genes candidatos de control de fitoreguladores que afectan la elongación de células y órganos. Los genes segregantes en nuestras poblaciones producen cambios moderados en el fenotipo, de entre 2 y 5 cm sobre la altura de la planta.
- C3. La resistencia al doblado ha resultado un carácter poco heredable, con una importante dominancia, y no es un buen indicador de la resistencia al encamado en campo, por lo que no es recomendable su inclusión en el programa de Mejora del Departamento del arroz. Se ha observado, sin embargo, que la selección para reducir la altura conlleva, en este germoplasma, tallos más fáciles de doblar, lo cual se corresponde con la existencia de algunas regiones cromosómicas que afectan a ambos caracteres y que no conviene utilizar para reducir la altura: son los QTLs Ltallo1.1 y Ltallo11.1
- C4. Los caracteres estructurales analizados (diámetro, porte y resistencia al doblado) no muestran importantes correlaciones entre sí. Por otra parte, la selección de plantas con tallos más gruesos favorece un mayor peso de las panículas; tal selección se vería facilitada mediante marcadores cercanos a los QTLs Diam1.1, 3.3 y 12.1.
- C5. El análisis de QTLs concuerda con la importante dominancia y sobredominancia encontrada y esperada en los caracteres de producción.
- C6. De los cuatro componentes del peso total de las panículas, el número de panículas es el más determinante. El peso del grano, por su parte, no siempre es un factor clave en el peso de la panícula. Atendiendo a la influencia ambiental, la heredabilidad y la laboriosidad en la evaluación, para la mejora de la productividad es más recomendable la selección sobre el peso medio de la panícula.
- C7. El peso de los granos viene determinado básicamente por sus dimensiones (principalmente, por la anchura), que son además parámetros fundamentales de la calidad del grano de arroz. Coincidiendo

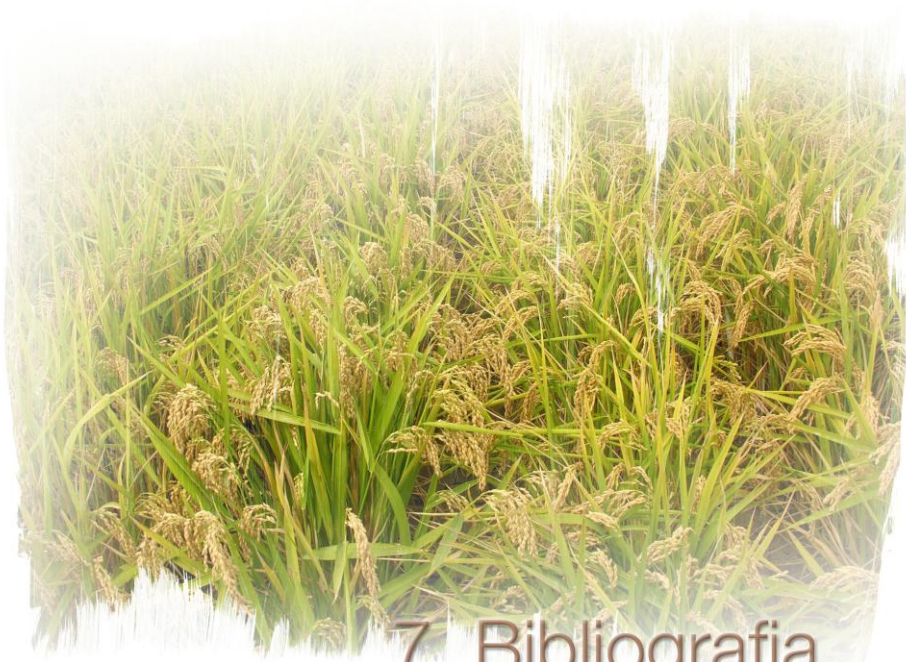
con la heredabilidad en sentido amplio generalmente alta de estos caracteres, los QTLs explican la mayor parte de la variación observada, y muestran una escasa influencia ambiental.

D. Implicaciones para M.A.S.

- D1. En algunas regiones cromosómicas se localizan QTLs importantes para varios de los caracteres estudiados, que deben ser tenidas en cuenta en la selección para evitar combinaciones no deseadas. Se trata de los segmentos marcados por RM294A-RM473A y RM486-RM165, en el cromosoma 1; RM174-RM438 y RM263-RM482, en el cromosoma 2; RM473B-RM347 y RM422-RM148, en el cromosoma 3; RM548-RM574 y RM87, en el cromosoma 5; RM162-RM340, en el cromosoma 6; RM215, en el cromosoma 9; y RM260-RM309, en el cromosoma 12.
- D2. Existen regiones cromosómicas que permiten seleccionar plantas de baja estatura al reducir la longitud de los tallos sin que la de la panícula se vea afectada; se trata de los QTLs Ltallo3.3, 6.2, 8.1 y 11.1. Ltallo8.1, además, coincide con QTLs de porte y de diámetro, permitiendo seleccionar los alelos favorables simultáneamente. También es interesante Ltallo9.1, donde la selección del alelo que reduce la altura llevaría consigo un aumento del peso de la panícula.
- D3. Los QTLs Pespan2.1, 4.1, 6.1 y 7.1 son candidatos para realizar M.A.S., ya que su selección no arrastraría efectos no deseados en otros caracteres, y sus efectos aditivos son importantes.
- D4. Los QTLs Madur2.2 y Madur3.2 son posibles candidatos para ser introducidos en un programa de mejora mediante M.A.S., pues se trata de QTLs robustos que se detectan en las tres subfamilias y en otras poblaciones utilizadas en estudios previos. Además, en estos QTLs es posible seleccionar el alelo que reduce el ciclo sin afectar significativamente a otros caracteres.
- D5. Para las dimensiones del grano destacan algunas regiones que se detectan en varias subfamilias y ambientes, y que coinciden en algunos casos con QTLs previamente descritos en germoplasma bastante diferente: son los QTLs de longitud L3.1 y L3.2 (éste afectando también

significativamente al peso de los granos); y los de anchura A2.3, A5.1, A1.2, y A10.1, los dos últimos con efectos también sobre el peso. Pero hay que tener en cuenta que existen asociaciones, a nivel de correlaciones y también de QTLs, entre la longitud del grano y la de otros órganos de la planta, que pueden dificultar una mejora conjunta de la altura y de las dimensiones.

D6. Coincidiendo con las correlaciones encontradas, tres de los QTLs con mayor significación sobre el perlado afectan también a las dimensiones del grano, de manera que el alelo asociado a granos más cortos y anchos favorece un mayor perlado. Los QTLs de los intervalos 3.1, 3.2 y 5.1 permitirían seleccionar bien un grano largo, estrecho y cristalino, o bien un grano corto, ancho y perlado, que es lo que en la actualidad demanda el mercado español.



7. Bibliografia

7. Bibliografía

7.1. Referencias bibliográficas

Abe, K., H. Takahashi y H. Suge (1996). Lazy gene (*la*) responsible for both an agravitropism of seeding and lazy habit of tiller growth in rice (*Oryza sativa* L.). J. Plant Res. 109: 381-386.

Adams, M.D., J.M. Kelley, J.D. Gocayne y col. (1991). Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. Science 252 (5013): 1651-6.

Aguilar, M. (2001). Cultivo del arroz en el sur de España. Centro de investigación y formación agraria, Sevilla. 189pp.

Ahmad, L., A.H. Zakri, B.S. Jalani y D. Omar (1986). Detection of additive and non-additive variation in rice. En: Rice genetics. IRRI, Manila, Philippines, pp: 555-564.

Ahn, S. y S.D. Tanksley (1993). Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7980-7984.

Aliaga, J.R. (1984). Caracterización morfológica y bioquímica de variedades de arroz cultivadas en España. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Aliaga, J.R., F. Culiañez y E. Primo (1986). Estudio descriptivo de variedades de arroz. Valencia, Caja de Ahorros de Valencia.

Allard, R.W. (1960). Principles of plant breeding. John Wiley and Sons, Inc. New York, NY.

Aluko, G., C. Martinez, J. Tohme, C. Castano, C. Bergman y J.H. Oard (2004). QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* x *O. glaberrima*. Theor. Appl. Genet. 109: 630-639.

Amano, T., Q. Zhu, Y. Wang, N. Inoue y H. Tanaka (1993). Case studies on high yields of paddy rice in Jiangsu province, China, II. Analysis of characters related to lodging. Jpn. J. Crop. Sci. 62: 275-281.

An, G., D-H. Jeong, S. An, H-G. Kang, S. Moon, J. Han, S. Park, H.S. Lee, y K. An (2003). Activation tagged mutants to discover novel rice genes. En: T.W. Mew, D.S. Brar, S. Peng, D. Dawe and B. Hardy (Eds.), Rice Science: Innovations and

Impact for Livelihood. Proceedings of the International Rice Research Conference, 16-19 September 2002, Beijing, China, International Rice Research Institute, Chinese Academy of Engineering, and Chinese Academy of Agricultural Sciences, pp: 195-204.

Aquino, R.C. y P.R. Jennings (1966). Inheritance and significance of dwarfism in an indica rice variety. *Crop Sci.* 6: 551-554.

Asai, K., N. Satoh, H. Sasaki, H. Satoh y Y. Nagato (2002). A rice heterochronic mutant, *mori1*, is defective in the juvenile-adult phase change. *Development* 129: 265-273.

Ashikari, M., J. Wu, M. Yano, T. Sasaki y A. Yoshimura (1999). Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf1* encodes the α -subunit of GTP-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 10284-10289.

Atkins, I.M. (1938). Relation of certain plant characters to strenght of straw and lodging in winter wheat. *J. Agric. Res.* 56: 99-120.

Avakyan, E.R. (2006). The role of gibberelic acid in the formation of rice plant productivity. In: Kharitinov E.M., Kovalyov V.S. y G.L. Zelensky (eds) Sustainable rice production: Present state and perspectives. Proc. Int. Scientific conference 5-9 September. Krasnodar (Russia). pp.239-244.

Badawi, A.T. y A.A. El-Hissewy (2001). Rice grain quality aspects in Egypt. pp: 301-310. En: Chaudhary RC, Tran DV and Duffy R. (eds), Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing. Science Publishers Inc, Enfield, USA.

Ballini, E., J.B. Morel, G. Droc, A. Price, B. Courtois, J.L. Notteghem y D. Tharreau (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 (MPMI)* 21: 859-868.

Beavis, W. (1998). QTL Analyses: power, precision and accuracy. En: A.H. Paterson (Ed.), *Molecular Dissection of Complex Traits*. CRC Press, Boca Raton.

Beavis, W.D., D. Grant, M. Albertsen y R. Fincher (1991). Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci. *Theor Appl. Genet.* 83: 141-145.

- Berry, P.M., M. Sterling, J.H. Spink, C.J. Baker, R. Sylvester-Bradley, S.J. Mooney, A.R. Tams y A.R. Ennos (2004).** Understanding and reducing lodging in cereals. *Advances in Agronomy* 84: 217-271.
- Blair, M.W., O. Panaud y S.R. McCouch (1999).** Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98: 780-792.
- Brandy, J. (1934).** Some factors influencing lodging in cereals. *J. Agric. Sci.* 24: 209-231.
- Briz, J., I. de Felipe y L. Guerrero (1997).** Rice consumer attitudes in Spain: case of Madrid and Catalonia. pp: 165-196. En: *International Symposium in Rice Quality*. Nottingham.
- Brondani, C., N. Rangel, V. Brondani y E. Ferreira (2002).** QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1192-1203.
- Brookes, A.J. (1999).** The essence of SNPs. *Gene* 234: 177-186.
- Caetano-Anolles, G., J.B. Brant y M.G. Peter (1991).** DNA amplification fingerprinting: A strategy for genome analysis. *Plant Molec. Biol. Reporter* 9: 294-307.
- Cai, H.W. y H. Morishima (2002).** QTL clusters reflect character associations in wild and cultivated rice. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1217-1228.
- Carbonell, E.A., M.J. Asíns, M. Baselga, E. Balansard y T.M. Gering (1993).** Power studies in the estimation of genetic parameters and the localization of quantitative trait loci for backcross and doubled haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 86: 411-416.
- Carreres, R. (1988).** Estudio de los atributos de calidad del arroz. pp: 823-842. En: *Ente Risi (Ed), X Convegno Internazionale sulla Riscicoltura*. Vercelli, Italia.
- Carreres, R. (2003).** El cultivo del arroz. En: "Jornadas sobre el genoma del arroz". Edit. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados. pp: 17-36.
- Carreres, R., J.L. León y R. Ballesteros (2003).** Calidad de las variedades de arroz cultivadas en España. 3rd International Temperate Rice Conference. Punta del Este, Uruguay.

- Causse, M.A., T.M. Fulton, Y.G. Cho, S.N. Ahn, J. Chunwongse, K. Wu, J. Xiao, Z. Yu, P.C. Ronald, S.E. Harrington, G. Second, S.R. McCouch y S.D. Tanksley (1994).** Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* 138: 1251-1274.
- Chakraborty, S. (2001).** Rice breeding and genetics. Concept Publishing Company, New Delhi.
- Chandler, Jr. R.F. (1969).** Plant morphology and stand geometry in relation to nitrogen. En: Eastin, J.D., Haskins, F.A., Sullivan, C.Y., Van Bavel, C.H.M. (Eds.), *Physiological Aspects of Crop Yield*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp: 265-285.
- Chandraratna, M.F. (1964).** Genetics and breeding of rice. Longmans, London.
- Chang, T-T. (1976).** The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. *Euphytica* 25: 435-441.
- Chao, L.F. (1928).** Linkage studies in rice. *Genetics* 13: 133-169.
- Chauhan, J.S. (1998).** Inheritance of grain weight, size and shape in region rainfed rice (*Oryza sativa*). *Indian J. Agric. Sci.* 68: 9-12.
- Chen, P., L. Jiang, C. Yu, W. Zhang, J. Wang y J. Wan (2008).** The identification and mapping of a tiller angle QTL on rice chromosome 9. *Crop Sci.* 48: 1799-1806.
- Cheng, S.H., L.Y. Cao, J.Y. Zhuang, S.G. Chen, X.D. Zhan, Y.Y. Fan, D.F. Zhu y S.K. Min (2007).** Super hybrid rice breeding in China: achievements and prospects. *J. Integrative Plant Biol.* 49: 805-810.
- Cho, Y.C., J.P. Suh, I.S. Choi, H.C. Hong, M.K. Baek, K.H. Kang, Y.G. Kim, S.N. Ahn, H.C. Choi, H.G. Hwang y H.P. Moon (2003).** QTLs analysis of yield and its related traits in wild rice relative *Oryza ruffipogon*. *Treat. of Crop Res. Korea.* 4: 19-29.
- Cho, Y.G., H.J. Kang, J.S. Lee, Y.T. Lee, S.J. Lim, H. Gauch, M.Y. Eun y S.R. McCouch (2007).** Identification of quantitative trait loci in rice for yield, yield components, and agronomic traits across years and locations. *Crop Science* 47: 2403-2417.

- Cho, Y.G., M.Y. Eun, S.R. McCouch y Y.A. Chae (1994).** The semidwarf gene, *sd-1*, of rice (*Oryza sativa* L.): Molecular mapping and marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 89: 54-59.
- Cho, Y.G., T. Ishii, S. Temnykh, X. Chen, L. Lipovich, S.R. McCouch, Park, N. Ayres y S. Cartinhour (2000).** Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 100: 0713-0722.
- Clark, E.R. y H.K. Wilson (1933).** Lodging in small grains. *J. Amer. Soc. Agron.* 25: 561-572.
- Cui, K.H., S.B. Peng, Y.Z. Xing, S.B. Yu, C.G. Xu y Q. Zhang (2003).** Molecular dissection of the genetic relationships of source, sink and transport tissue with yield traits in rice. *Theor. Appl. Genet.* 106: 649-458.
- Darvasi, A., A. Weinreb, V. Minke, J.I. Weller y M. Soller (1993).** Detecting marker-QTL linkage and estimating QTL gene effect and map location using a saturated genetic map. *Genetics* 134: 943-951.
- Dellaporta, S.L., J. Wood y J.B. Hicks (1983).** A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molec. Rep.* 1: 19-21.
- Devos, K.M. y M.D. Gale (1997).** Comparative genetics in the grasses. *Plant Mol. Biol.* 35: 3-15.
- Doi, K., A. Yoshimura y N. Iwata (1998).** RFLP mapping and QTL analysis of heading date and pollen sterility using backcross populations between *Oryza sativa* L. and *Oryza glaberrima* Steud. *Breeding Sci.* 48: 395-399.
- Duan, C.R., B.C. Wang, P.Q. Wang, D.H. Wang y S.X. Cai (2004).** Relationship between the minute structure and the lodging resistance of rice stems. *Colloids and surfaces b-interfaces* 35: 155-158.
- Easson, D.L., E.M. White y S.J. Pickles (1993).** The effect of weather, seed rate and cultivar on lodging and yield in winter wheat. *J. Agric. Sci.* 121: 145-156.
- East, E.M. (1910).** A Mendelian interpretation of variation that is apparently continuous. *Am. Nat.* 44: 65-82.
- East, E.M. y H.K. Hayes (1911).** Inheritance in Maize. *Conn. Agric. Exp. Station Bull.* 167: 142.

- Edwards, M.D., T. Helentjaris, S. Wright y C.W. Stuber (1992).** Molecular markers facilitate investigations of quantitative trait loci in maize. 4. Analysis based on genome saturation with isozyme and restriction fragment length polymorphism markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 765-774.
- Efferson, JN. (1985).** Rice quality in world markets. pp: 1-13. En IRRI (ed), *Rice Grain Quality and Marketing*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Emerson, R. A. y E.M. East (1913).** The inheritance of quantitative characters in maize. *Bull. Nebr. Agric. Exper. Sta. Bull.* 2: 120.
- Falconer, D.S. (1981).** Introduction to quantitative genetics. Ed.2. Longmans Green, London/New York.
- Fan, C., Y. Xing, H. Mao, T. Lu, B. Han, C. Xu, X. Li y Q. Zhang (2006).** GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane proteína. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1164-1171.
- Fang, P.Y. (1991).** Breeding new rice strains through anther culture. En: Bajaj, Y.P.S. (Ed). *Biotechnology in agriculture and forestry*. Springer Verlag, Berlín, Alemania. Volumen 14, pp: 216-229.
- Faure, J. y F. Mazaud (1995).** La calidad del arroz en la Unión Europea. *Agriculture et developpment (numero especial)*: 2-13.
- Flavell, A.J., M.R. Knox, S.R. Pearce y T.H.N. Ellis, (1998).** Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. *Plant J* 16: 643-650.
- Flintham, J.E., A. Börner, A.J. Worland y M.D. Gale (1997).** Optimizing wheat grain yield: effects of Rht (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *J. Agric. Sci.* 128: 11-25.
- Foster, K.W. y J.N. Rutger (1978).** Inheritance of semidwarfism in rice, *Oryza sativa* L. *Genetics* 88: 559-574.
- Fujisawa, Y., T. Kato, S. Ohki, A. Ishikawa, H. Kitano, T. Sasaki, T. Asahi y Y. Iwasaki (1999).** Suppression of the heterotrimeric G protein causes abnormal morphology, including dwarfism, in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 7575-7580.

- Fukuta, Y. (1995).** RFLP mapping of a shattering-resistance gene in the mutant line, *SR-1* induced from an indica rice variety, Nanjing 11. *Breed Sci.* 45: 15-19.
- Futsuhara, Y. y F. Kikuchi (1997).** Dwarf characters. En: T. Matsuo, Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (Eds.), *Science of the Rice Plant*. vol. 3, Genetics, Tokyo, Japan, pp: 300-308.
- Garris, A.J., T.H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich y S. McCouch (2005).** Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169: 1631-1638.
- Geldermann, H. (1975).** Investigation on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. 1. Methods. *Theor. Appl. Genet.* 46: 319-330.
- Glaszmann, J. C., H. Benoit y M. Arnaud (1984).** Classification des riz cultivés (*Oryza sativa* L.). Utilization de la variabilité isoenzymatique. *L' Agronomie Tropicale* 39: 51-66.
- Goff, S.A., D. Ricke, T.H. Lan, G. Presting, R. Wang, M. Dunn, J. Glazebrook, A. Sessions, P. Oeller, H. Varma, D. Hadley, D. Hutchison, C. Martin, F. Katagiri, B.M. Lange, T. Moughamer, Y. Xia, P. Budworth, J. Zhong, T. Miguel, U. Paszkowski, S. Zhang, M. Colbert, W.L. Sun, L. Chen, B. Cooper, S. Park, T.C. Wood, L. Mao, P. Quail, R. Wing, R. Dean, Y. Yu, A. Zharkikh, R. Shen, S. Sahasrabudhe, A. Thomas, R. Cannings, A. Gutin, D. Pruss, J. Reid, S. Tavtigian, J. Mitchell, G. Eldredge, T. Scholl, R.M. Miller, S. Bhatnagar, N. Adey, T. Rubano, N. Tusneem, R. Robinson, J. Feldhaus, T. Macalma, A. Oliphant y S. Briggs (2002).** A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* 296: 92-100.
- Gómez, K.A. y Gómez A.A. (1976).** Statistical procedures for agricultural research with emphasis on rice. IRRI, LosBaños, The Philippines. pp. 294.
- Gowda, M., R.C. Venu, K. Roopalakshimi, M.V. Sreerekha y R.S. Kulkarni (2003).** Advances in rice breeding, genetics and genomics. *Molec. Breed.* 11: 337-352.
- Guimarães, E.P., N.R.A. Vieira y B.S. Pinheiro (2001).** Breeding for speciality rice in Latin América: status and perspectives. pp: 317- 321. En Chaudhary R.C., Tran D.V. and Duffy R. (eds), *Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing*. Science Publishers Inc. Enfield, USA.

- Gupta, M., T-S. Chyi, J. Romero-Seversen y J.L. Owen (1994).** Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.* 89: 998-1006.
- Hackett, C.A. (2002).** Statistical methods for QTL mapping in cereals. *Plant Molec. Biol.* 48: 585-599.
- Haley, C.S. y L. Andersson (1997).** Linkage mapping of quantitative trait loci in plants and animals. En: Dear P.H. (Ed.), *Genome Mapping*. IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, pp: 49-71.
- Hartl, D. y E. Jones (2001).** *Genetics: Analysis of Genes and Genomes*. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA.
- Harushima, Y., N. Kurata, M. Yano, Y. Nagamura, T. Sasaki, Y. Minobe y M. Nakagahra (1996).** Detection of segregation distortions in an *indica-japonica* rice cross using a high-resolution molecular map. *Theor. Appl. Genet.* 92: 145-150.
- Hauteville, F., P. Aurier y L. Sirieix (1997).** A sensory approach to consumer's preferences for rice. First results of a European survey. pp: 117-136. En: *International Symposium in Rice Quality*. Nottingham.
- He P., S.G. Li, Q. Qian, Y.Q. Ma, J.Z. Li, W.M. Wang, Y. Chen y L.H. Zhu (1999).** Genetic analysis of rice grain quality. *Theor. Appl. Genet.* 98: 502-508.
- Hemamalini, G.S, H.E. Shashidhar y S. Hittalmani (2000).** Molecular marker assisted tagging of morphological and physiological traits under two contrasting moisture regimes at peak vegetative stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 112: 69-78.
- Hiei, Y., S. Ohta, T. Komari y T. Kumashiro (1994).** Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J.* 6: 271-282.
- Hirochika, H. (2003).** Insertional mutagenesis in rice using the endogenous retrotransposon. En: T.W. Mew, D.S. Brar, S. Peng, D. Dawe, and B. Hardy (Eds.), *Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood*, Proceedings of the International Rice Research Conference, 16-19 September 2002, Beijing, China, International Rice Research Institute, Chinese Academy of Engineering, and Chinese Academy of Agricultural Sciences, pp: 205-212.

- Hirochika, H., E. Guiderdoni, G. An, Y.I. Hsing, M.Y. Eun, C.D. Han, N. Upadhyaya, S. Ramachyran, Q. Zhang, A. Pereira, V. Sundaresan y H. Leung (2004).** Rice mutant resources for gene discovery. *Plant Mol. Biol.* 54: 325-334.
- Hitaka, H. (1969).** Studies on the lodging of rice plants. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 4: 1-6.
- Hitaka, N. (1968).** Experimental studies on the mechanisms of lodging and of its effect on yield in rice plants. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sc., Ser. A* 15: 1-175.
- Hittalmani, S., H.E. Shashidhar, Prashanth G. Bagali, N. Huang, J.S. Sidhu, V.P. Singh y G.S. Khush (2002).** Molecular mapping of quantitative trait loci for plant growth, yield and yield related traits across three diverse locations in a doubled haploid rice population. *Euphytica* 125: 207-214.
- Hittalmani, S., N. Huang, B. Courtois, R. Venuprasad, H.E. Shashidhar, J.Y. Zhuang, K.L. Zheng, G.F. Liu, G.C. Wang, J.S. Sidhu, S. Srivantaneeyakul, V.P. Singh, P.G. Bagali, H.C. Prasanna, G. McLaren y G.S. Khush (2003).** Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theor. Appl. Genet.* 107: 679-690.
- Hong, Z., M. Ueguchi-Tanaka, K. Umemura, S. Uozu, S. Fujioka, S. Takatsuto, S. Yoshida, M. Ashikari, H. Kitano y M. Matsuoka (2003).** A rice brassinosteroid-deficient mutant, *ebisu dwarf (d2)*, is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. *Plant Cell* 15: 2900-2910.
- Hooley, R. (1994).** Gibberellins: perception, transduction and responses. *Plant Molec. Biol.* 26: 1529-1555.
- Hoshikawa, K. y S.B. Wang (1990).** Studies lodging in rice plants. I. A general observation on lodged rice culms. *Jpn. J. Crop. Sci.* 59: 809-814.
- Huang, N., A. Parco, T. Mew, G. Magpantay, S. McCouch, E. Guiderdoni, J. Xu, P. Subudhi, E.R. Angeles y G.S. Khush (1997).** RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown planthopper resistance in a doubled haploid rice population. *Mol. Breed.* 3: 105-113.
- Huang, N., B. Courtois, G.S. Khush, H.X. Lin, G.L. Wang, P. Wu y K.L. Zheng (1996).** Association of quantitative trait loci for plant height with major dwarfing genes in rice. *Heredity* 77: 130-137.

- Hyne, V. y M.J. Kearsey (1995).** QTL analysis: further uses of 'marker regression'. *Theor. Appl. Genet.* 91: 471-476.
- Ichii, M. y K. Hada (1983).** Application of ratoon to a test of agronomic characters in rice breeding. II. The relationship between ratoon ability and lodging resistance. *Jpn. J. Breed.* 33: 251-258.
- Idris, M.D., M.M. Hossain y F.A. Choudhury (1975).** The effect of silicon on lodging of rice in presence of added nitrogen. *Plant Soil* 43: 691-695.
- Ikehashi, H. y G.S. Khush (1979).** Methodology of assessing appearance of the rice grain, including chalkiness and whiteness. pp: 223-230. En: *Proceedings of the Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality*. IRRI. Los Baños, Laguna, Philippines.
- Ishimaru, K., E. Togawa, T. Ookawa, T. Kashiwagi, Y. Madoka y N. Hirotsu (2008).** New target for rice lodging resistance and its effect in a typhoon. *Planta* 227: 601-609.
- Ishimaru, K., M. Yano, N. Aoki, K. Ono, T. Hirose, S.Y. Lin, L. Monna, T. Sasaki y R. Ohsugi (2001).** Toward the mapping of physiological and agronomic characters on a rice function map: QTL analysis and comparison between QTLs and expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.* 102: 793-800.
- Islam M.S., S. Peng, R.M. Visperas, N. Ereful, M.S.Y. Bhuiya y A.W. Julfikar (2007).** Lodging-related morphological traits of hybrid rice in a tropical irrigated ecosystem. *Field Crops Research* 101: 240-248.
- Iwata, N., T. Nagamatsu y T. Omura (1964).** Abnormal segregation of waxy and apiculus coloration by a gametophyte gene belonging to the first linkage group in rice. *Jap. J. Breed.* 14: 33-39.
- Izawa, T., Y. Takahashi y M. Yano (2003).** Comparative biology comes into bloom: genomic and genetic comparison of flowering pathways in rice and *Arabidopsis*. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 6: 113-120.
- Jansen, R. y P. Stam (1994).** High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447-1455.
- Jarne, P. y J. Lagoda (1996).** Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424-430.

- Jennings, P.R., W.R. Coffman y H.E. Kauffman (1979).** Rice Improvement. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Jeon, J.S., S. Lee, K.H. Jung, S.H. Jun, D.H. Jeong, J. Lee, C. Kim, S. Jang, S. Lee, K. Yang, J. Nam, J. An, M.J. Han, R.J. Sung, H.S. Choi, J.H. Yu, J.H. Choi, S.Y. Cho, S.S. Cha, S.I. Kim y G. An (2000).** T-DNA insertional mutagenesis for functional genomics of rice. *Plant J.* 22: 561-570.
- Jiang, G.H, X.Y. Hong, C.G. Xu, X.H. Li y Y.Q. He (2005).** Identification of quantitative trait loci for grain appearance and milling quality using a doubled-haploid rice population. *J. Integrative Plant Biol.* 47: 1391-1403.
- Johannsen W.L. (1909).** The elements of heredity.
- Jones, L., A.R. Ennos y S.R. Turner (2001).** Cloning and characterization of *irregular xilem 4 (irx4)*: a severely lignin-deficient mutant of *Arabidopsis*. *Plant J.* 26: 205-216.
- Juliano, B.O. (1985).** Criteria and test for rice grain qualities. pp: 443-524. En: Juliano BO (ed), *Rice Chemistry and Technology*, 2nd edition, American Association of Cereal Chemists, St Paul, Minnesota.
- Kalendar, R., T. Grob, M. Regina, A. Souniemi y A. Schulman (1999).** IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl. Genet.* 98: 704-711.
- Kang, H.G., S. Park, M. Matsuoka y G. An (2005).** White-core endosperm *floury endosperm-4* in rice is generated by knockout mutations in the C₄-type pyruvate orthophosphate dikinase gene (*OsPPDKB*). *Plant J.* 42: 901-911.
- Kao, C.H.Z. y B. Zeng (1997).** General formulas for obtaining the MLEs and the asymptotic variance-covariance matrix in mapping for QTL. *Genetics* 152: 1203-1216.
- Kao, C.H.Z., B. Zeng y R.D. Teasdale (1999).** Multiple interval mapping for QTL. *Genetics* 139: 1203-1216.
- Kaosa-ard, M. y B.O. Juliano (1991).** Assessing rice quality characteristics and prices in selected international markets. pp: 23-35. En: IRRI (ed), *Rice Grain Marketing and Quality Issues*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

- Kaosa-ard, M. y B.O. Juliano (1991).** Assessing rice quality characteristics and prices in selected international markets. pp: 23-35. En: IRRI (ed), Rice Grain Marketing and Quality Issues. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Kashiwagi, T. y K. Ishimaru (2004).** Identification and functional analysis of a locus for improvement of lodging resistance in rice. *Plant Physiology* 134: 676-683.
- Kashiwagi, T., E. Togawa, N. Hirotsu y K. Ishimaru (2008).** Improvement of lodging resistance with QTLs for stem diameter in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 117: 749-757.
- Kashiwagi, T., H. Sasaki y K. Ishimaru (2005).** Factors responsible for decreasing sturdiness of the lower part in lodging of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 8: 166-172.
- Kashiwagi, T., N. Hirotsu, K. Ujiie y K. Ishimaru (2010).** Lodging resistance locus *prl5* improves physical strength of the lower plant part under different conditions of fertilization in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research* 115: 107-115.
- Kashiwagi, T., N. Hirotsu, K. Ujiie y K. Ishimaru (2010).** Lodging resistance locus *prl5* improves physical strength of the lower plant part under different conditions of fertilization in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research* 115: 107-115.
- Kashiwagi, T., Y. Madoka, N. Hirotsu y K. Ishimaru (2006).** Locus *prl5* improves lodging resistance of rice by delaying senescence and increasing carbohydrate accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 152-157.
- Katayama, T.C. (1993).** *Indica, Japonica and Javanica*. En: "Science of the rice plant. Volumen one: Morphology". T.M Matruo, and K., Hoshikawa, eds. Pb. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokio, Japan.
- Kato, S., H. Kosaka y S. Hara (1928).** On the affinity of rice varieties as shown by the fertility of rice plants. *Centr. Agric. Inst. Kyushu. Imperial Univ.* 2: 241-276.
- Kearsey, M. y H. Pooney (1996).** The genetical analysis of quantitative traits. Chapman & Hall, London. 133-164.

- Keller, M., C.H. Karutz, J.E. Schmid, P. Stamo, M. Winzeler, B. Keller y M.M. Messmer (1999).** Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat x spelt population. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1171-1182.
- Kellogg, E.A. (2001).** Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiol.* 125: 1198-1205.
- Khush, G.S. (1997).** Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molec. Biol.* 35: 25-34.
- Khush, G.S. (1999).** Green revolution: preparing for the 21st century. *Genome* 42: 646-655.
- Khush, G.S. (2001).** New plant type of rice for increasing the genetic yield potential. En: J.S. Nanda (ed.) *Rice breeding and genetics*. Science Publishers, Enfield (New Hampshire, EUA). pp: 99-108.
- Khush, G.S. (2005).** What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030? *Plant Molec. Biol.* 59: 1-6.
- Khush, G.S. y P.S. Virk (2005).** IR varieties and their impact. *Internacional Rice Research Institute*. Los Baños (Filipinas). 163 pp.
- Kinoshita, T. (1991).** Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. *Rice Genet. Newsl.* 8: 2-37.
- Kinoshita, T. (1993).** Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. *Rice Genet. Newsl.* 10: 7-39.
- Kinoshita, T. (1995).** Report of committee on gene symbolization, nomenclature, and linkage groups. *Rice Genet. Newsl.* 12: 9-93.
- Kinoshita, T. (1998).** Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. II. Linkage mapping using mutant genes in rice. *Rice Genet. Newsl.* 15: 13-74.
- Kobayashi, A., B. Genliang, Y. Shenghai y K. Tomita (2007).** Detection of quantitative trait loci for white-back and basal-white kernels under high temperature stress in *japonica* rice varieties. *Breed. Sci.* 57: 107-116.
- Kobayashi, S., Y. Fukuta, T. Sato, M. Osaka y G.S. Khush (2003).** Molecular marker dissection of rice (*Oryza sativa* L.) plant architecture under temperate and tropical climates. *Theor. Appl. Genet.* 107: 1350-1356.

- Kohn, J.R., N. Leyva, R. Dossey, B. Sobral y H. Morishima (1997).** Quantitative trait locus analysis of trait variation among annual and perennial ecotypes of *Oryza rufipogon*. *Int. Rice Res. Notes* 22: 4-5.
- Kojima, S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki y M. Yano (2002).** *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43: 1096-1105.
- Kokubo, A., S. Kuraishi y N. Sakurai (1989).** Culm strength of barley. Correlation among maximum bending stress, cell wall dimensions, and cellulose content. *Plant Physiol.* 91: 876-882.
- Kolesnik, T., I. Szeverenyi, D. Bachmann, C.S. Kumar, S. Jiang, R. Ramamoorthy, M. Cai, Z.G. Ma, V. Sundaresan y S. Ramachyran (2004).** Establishing an efficient Ac/Ds tagging system in rice: large-scale analysis of Ds flanking sequences. *Plant J.* 37: 301-314.
- Komari, T., Y. Hiei, Y. Ishida, T. Kumashiro y T. Kubo (1998).** Advances in cereal gene transfer. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1: 161-165.
- Konieczyn, A. y F.M. Asubel (1993).** A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J.* 4: 403-410.
- Kono, M. (1995).** Physiological aspects of lodging. En: T. Matsuo, K. Kumazawa, R. Ishii, K. Ishihara and H. Hirata eds., *Science of the Rice Plant. Vol. 2. Physiology.* Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo. 971-982.
- Kramer, A. y B.A. Twigg (1970).** *Quality Control for the Food Industry. Vol. I: Fundamentals.* AVI Publ. Co. USA.
- Kubo, T., N. Takano-Kai y A. Yoshimura (2001).** RFLP mapping of genes for long kernel and awn on chromosome 3 in rice. *Rice Genet. Newsl.* 18: 26-28.
- Kwon, S-J., Y-C. Cho, S-W. Kwon, C-S. Oh, J-P. Suh, Y-S. Shin, Y-G. Kim, D. Holligan, S.R. Wessler, H-G. Hwang y S-N. Ahn (2008).** QTL mapping of agronomic traits using an RIL population derived from a cross between temperate japonica cultivars in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science* 58: 271-279.
- Lafitte, H.R., B. Courtois y M. Arraudeau (2002).** Genetic improvement of rice in aerobic systems: progress from yield to genes. *Field Crops Res.* 75: 171-190.

- Lan, L., W. Chen, Y. Lai, J. Suo, Z. Kong, C. Li, Y. Lu, Y. Zhang, X. Zhao, X. Zhang, Y. Zhang, B. Han, J. Cheng y Y. Xue (2004).** Monitoring of gene expression profiles and isolation of candidate genes involved in pollination and fertilization in rice (*Oryza sativa* L.) with a 10K cDNA microarray. *Plant Mol. Biol.* 54: 471-487.
- Lanceras J.C., G. Pantuwan, B. Jongdee y T. Toojinda (2004).** Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage in rice. *Plant Physiol.* 135: 384-399.
- Lander, E.S. y D. Botstein (1989).** Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199. Corregido en *Genetics* (1994) 136: 705.
- Lawrence, M.J., D. Senadhira (2000).** A critical evaluation of current breeding strategies. En: J.S. Nanda (ed.). *Rice breeding and genetics* Science Publishers. Enfield (USA).
- Laza, M.R.C., S. Peng, S. Akita y H. Saka (2003).** Contribution of biomass partitioning and translocation to grain yield under sub-optimum growing conditions in irrigated rice. *Plant Prod. Sci.* 6: 28-35.
- León, J.L. (2002).** Calidad de las variedades de arroz cultivadas en España: caracterización y efecto de la procedencia de la muestra. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Leung, H., C. Wu, M. Baraoidan, A. Bordeos, M. Ramos, S. Madamba, P. Cabauatan, C. Vera Cruz, A. Portugal, G. Reyes, R. Bruskiwich, G. McLaren, R. Lafitte, G. Gregorio, J. Bennett, D. Brar, G. Khush, P. Schnable, G. Wang y J. Leach (2001).** Deletion mutants for functional genomics: progress in phenotyping, sequence assignment, and database development. En: G.S. Khush, D.S. Brar and B. Hardy (Eds.), *Rice Genetics IV. Proceedings of the Fourth International Rice Genetics Symposium, 22-27 October 2000, Los Baños, Philippines*, Science Publishers, Inc., New Delhi, India and International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines: 239-251.
- Li, C., A. Zhou y T. Sang (2006).** Genetic analysis of rice domestication syndrome with the wild annual species, *Oryza nivara*. *The New phytologist* 170: 185-193.
- Li, C.C. (1977).** Diallel analysis of yield and its component traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed. Abstract* 47: 45.

- Li, J., M. Thomson y S.R. McCouch (2004b).** Fine Mapping of a Grain-Weight Quantitative Trait Locus in the Pericentromeric Region of Rice Chromosome 3. *Genetics* 168: 2187-2195.
- Li, J., J. Xiao, S. Grandillo, L. Jiang, Y. Wan, Q. Deng, L. Yuan y S.R. McCouch (2004a).** QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived from cultivated Asian (*O. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice. *Genome* 47: 697-704.
- Li, J.X., S.B. Yu, C.G. Xu, Y.F. Tan, Y.J. Gao, X.H. Li y Q. Zhang (2000).** Analyzing quantitative trait loci for yield using a vegetatively replicated F2 population from a cross between the parents of an elite rice hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 101: 248-254.
- Li, L., K. Lu, Z. Chen, T. Mu, Z. Hu y L. Xinqi (2008).** Dominance, overdominance and epistasis condition the heterosis in two heterotic rice hybrids. *Genetics* 180: 1725-1742.
- Li, P.J., Y.H. Wang, Q. Qian, Z.M. Fu, M. Wang, D.L. Zeng, B.H. Li, X.J. Wang y J.Y. Li (2007).** *LAZY1* controls rice shoot gravitropism through regulating polar auxin transport. *Cell Res.* 17: 402-410.
- Li, Y., Q. Qian, Y. Zhou, M. Yan, L. Sun, M. Zhang, Z. Fu, Y. Wang, B. Han, X. Pang, M. Chen y J. Li (2003a).** BRITTLE CULM1, which encodes a COBRA-like protein, affects the mechanical properties of rice plants. *Plant Cell* 15: 2020-2031.
- Li, Z., S.R.M. Pinson, J.W. Stansel y W.D. Park (1995).** Identification of two major genes and quantitative trait loci (QTLs) for heading date and plant height in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 91: 374-381.
- Li, Z., S.R.M. Pinson, W.D. Park, A.H. Paterson y J.W. Stansel (1997).** Epistasis for the three grain components in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics* 145: 453-465.
- Li, Z.F., J.M. Wan, J.F. Xia y H.Q. Zhai (2003c).** Mapping quantitative trait loci underlying appearance quality of rice grains (*Oryza sativa* L.). *Acta genetica Sinica* 30: 251-259.
- Li, Z.K., A.H. Paterson, S.R.M. Pinson y J.W. Stansel (1999).** RFLP facilitated analysis of tiller and leaf angles in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 109: 79-84.
- Li, Z.K., S.B. Yu, H.R. Lafitte, N. Huang, B. Courtois, S. Hittalmani, C.H.M. Vijayakumar, G.F. Liu, G.C. Wang, H.E. Shashidhar, J.Y. Zhuang, K.L. Zheng,**

- V.P. Singh, J.S. Sidhu, S. Srivantaneeyakul y G.S. Khush (2003b).** QTL x environment interactions in rice. I. Heading date and plant height. *Theor. Appl. Genet.* 108: 141-153.
- Liang, K.J., W.X. Lin, X.R. Wang, Y.C. Guo, Y.Y. Liang y Z.X. Chen (2000).** Genetic effects and genotypexenvironment interactions for the lodging resistance of the culm of rice. *Fujian J. Agric. Sci.* 15: 9-15.
- Liao, C.Y., P. Wu, B. Hu y K.K. Yi (2001).** Effects of genetic background and environment on QTLs and epistasis for rice (*Oryza sativa* L.) panicle number. *Theor. Appl. Genet.* 103: 104-111.
- Lin H.X., H.R. Qian, J.Y. Zhuang, J. Lu, S.K. Min, Z.M. Xiong, N. Huang y K.L. Zheng (1996).** RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 92: 920-927.
- Lin, H.X., T. Yamamoto, T. Sasaki y M. Yano (2000).** Characterization and detection of epistatic interactions of 3 QTLs, *Hd1*, *Hd2*, and *Hd3*, controlling heading date in rice using nearly isogenic lines. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1021-1028.
- Lin, S.Y., T. Sasaki y M. Yano (1998).** Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice, *Oryza sativa* L., using backcross inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 96: 997-1003.
- Lin, S-C. y L-P. Yuan (1980).** Hybrid rice breeding in China. Pag. 35-51 en *Innovative approaches to rice breeding*. International Rice Research Institute, Los Baños, Filipinas.
- Lincoln, S.E., M.J. Daly y E.S. Lander (1993).** Mapping genes controlling quantitative traits using MapMaker/QTL version 1: 1: A tutorial and reference manual. Whitehead Institute for Biomedical Research, Technical Report, 2ª ed. Cambridge, Massachusetts, EEUU. Whitehead Institute for Biomedical Research, Technical Report, 2ª ed. Cambridge, Massachusetts, EEUU.
- Litt, M. y J.A. Luty (1989).** A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 397-401.
- Liu, B. (1998).** *Statistical Genomics: Linkage, Mapping and QTL Analysis*. CRC Press, Boca Raton.

- Liu, G., J. Yang, H. Xu y J. Zhu (2007).** Influence of epistasis and QTL x environment interaction on heading date of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics and Genomics (Formerly Acta Genetica Sinica)* 34: 608-615.
- Liu, G.L., H.W. Mei, X.Q. Yu, G.H. Zou, H.Y. Liu, S.P. Hu, M.S. Li, J.H. Wu, L. Chen y L.J. Luo (2008).** QTL analysis of panicle neck diameter, a trait highly correlated with panicle size, under well-watered and drought conditions in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science* 174: 71-77.
- Liu, T., D. Shao, M.R. Kovi y Y. Xing (2010).** Mapping and validation of quantitative trait loci for spikelets per panicle and 1.000-grain weight in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 120: 933-942.
- Lopez Campos, G., R. Ballesteros, J. Castells y J.A. Batalla (1975).** El arroz en España. Federación Sindical de Agricultores Arroceros. Valencia, España.
- Lu, C.F., L.S. Shen, Z.B. Tan, Y.B. Xu, P. He, Y. Chen y L.H. Zhu (1996).** Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments by using a doubled-haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1211-1217.
- Lu, C.F., L.S. Shen, Z.B. Tan, Y.B. Xu, P. He, Y. Chen y L.H. Zhu (1997).** Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments by using a doubled-haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 94: 145-150.
- Lujan, N. (1997).** Historia de la gastronomía. Ed. Folio.
- Lyttle, T.W. (1991).** Segregation distorters. *Annu. Rev. Genet.* 25: 511-557.
- Ma, Q.H., Y. Xu, Z.B. Lin y P. He (2002).** Cloning of cDNA encoding COMT from wheat which is differentially expressed in lodging-sensitive and -resistant cultivars. *J. Exp. Bot.* 53: 2281-2282.
- Maas, L.F., A. McClung y S. McCouch (2010).** Dissection of a QTL reveals an adaptative, interacting gene complex associated with transgressive variation for flowering time in rice. *Theor. Appl. Genet.* 120: 895-908.
- Mackill, D.J. y J.N. Rutger (1979).** The inheritance of induced-mutant semidwarfing genes in rice. *J. Hered.* 70: 335-341.
- Mackill, D.J., H.T. Nguyen y J. Zhan (1999).** Use molecular markers in plant improvement programs for rainfed lowland rice. *Field Crops Res* 64: 177-185.

- Maekawa, M. y F. Kita (1985).** New gametophyte genes located in the third linkage group (chromosome 3) of rice. *Jap.J. Breed.* 35: 25-31.
- Maheswaran, M., N. Huang, S.R. Sreeragasamy y S.R. McCouch (2000).** Mapping QTL associated with days to flowering and photoperiod sensitivity in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Breed.* 6: 145-155.
- Malik, S.S. y P. Chaudhary (2001).** Non-conventional tools in the improvement of aromatic rices. pp: 207-220. En: Chaudhary RC, Tran DV and Duffy R (eds), *Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing.* Science Publishers Inc, Enfield, USA.
- Mancuso, N. y C.E. Caviness (1991).** Association of selected plant traits with lodging of four determinate soybean cultivars. *Crop Sci* 31: 911-914.
- Marth, G.T., I. Korf, M.D. Yandell, R.T. Yeh, Z.J. Gu, H. Zakeri, N.O. Stitzel, L. Hillier, P.Y. Kwok y W.R. Gish (1999).** A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery. *Nature Genet.* 23: 452-456.
- Martínez, M.T. (2010).** Caracterización y optimización del ahijado del arroz en el Delta del Ebro. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Martin, G.B., J.G.K. Williams y S.D. Tanksley (1991).** Rapid identification of markers linked to *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 88: 2336-2340.
- Matsuba, K. (2000).** A new morphogenetic model on the most suitable leaf-internode unit and developmental stage for controlling plant types in rice cultivation. *Jpn.J.Crop Sci.* 69: 293-305.
- Matsuo, T. (1952).** Genecological studies on the cultivated rice. *Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. D* 3: 1-111.
- Matsuo, T., Y. Futsuhara, F. Kikuchi y H. Yamaguchi (1997).** *Science of the rice plant.* Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center; 1997.
- Matsuzaki, A., S. Matsushima, T. Tomita y E. Katsuki (1972).** Analysis of yield-determining process and its application to yield-prediction and culture improvement of lowland rice. CIX. Effects of nitrogen topdressing at full heading stage on lodging resistance, root activity, yield and kernel quality *Jpn. J. Crop. Sci.* 41: 139-146.

- Matsuzaki, A., S. Matsushima, T. Tomita y N. Jojima (1970).** Análisis of yield-determining process and its application to yield-prediction and culture improvement of rice. XCVII. Effects of nitrogen depletion at different stages of the plant type and lodging resistance of rice plants after heading. Proc. Crop Sci. Soc. Jpn. 39: 330-336.
- McCouch, S.R. y R.W. Doerge (1995).** QTL mapping in rice. Trends Genet. 11: 482-487.
- McCouch, S.R., G. Kochert, Z.H. Yu, Z.Y. Wang, G.S. Khush, R.W. Coffman y S.D. Tanksley (1988).** Molecular mapping of rice chromosomes. Theor. Appl. Genet. 76: 815-829.
- McMillan, I. y A. Robertson (1974).** The power of methods for the detection of major genes affecting quantitative characters. Heredity 32: 349-356.
- Mei, H.W., L.J. Luo, C.S. Ying, Y.P. Wang, X.Q. Yu, L.B. Guo, A.H. Paterson y Z.K. Li (2003).** Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two testcross populations. Theor. Appl. Genet. 107: 89-101.
- Mei, H.W., Z.K. Li, Q.Y. Shu, L.B. Guo, Y.P. Wang, X.Q. Yu, C.S. Ying y L.J. Luo (2005).** Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two testcross populations. Theor. Appl. Genet. 110: 649-659.
- Moncada, P., C.P. Martínez, J. Borrero, M. Chatel, H. Gauch Jr., E. Guimaraes, J. Tohme y S.R. McCouch (2001).** Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* × *Oryza rufipogon* BC2F2 population evaluated in an upland environment. Theor. Appl. Genet. 102: 41-52.
- Monna, L., N. Kitazawa, R. Yoshino, J. Suzuki, H. Masuda, Y. Maehara, M. Tanji, M. Sato, S. Nasu, Y. Minobe (2002).** Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: rice “green revolution gene” encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. DNA Res. 9: 11-17.
- Mori, K., T. Kinoshita y M. Takahashi (1973).** Segregation distortion and its causation of an endosperm character in crosses of distantly related rice varieties. Genetical studies on rice plant. LVIII. Mem. Fac. Agri. Hokkaido Univ., 9: 74-86.

- Moxon, E.R. y C. Wills. (1999).** DNA microsatellites: agents of evolution. *Scientific American* 1: 94-99.
- Mu, P., Z.C. Li, C.P. Li, H.L. Zhang y X.K. Wang (2004).** QTL analysis for lodging resistance in rice using a DH population under lowland and upland ecosystems. *Acta Genet. Sin.* 31: 717-723.
- Mueller, U.G. y L.L. Wolfenbarger (1999).** AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 389-394.
- Mulder, E.G. (1954).** Effect of mineral nutrition on lodging of cereals. *Plant Soil* 5: 246-306.
- Mullis, K., F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn y H. Erlich. (1986).** Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51: 263-73.
- Murai, M., S. Sato, A. Nagayama, N. Ishii y S. Ihashi (2002).** Effects of a major gene *Ur1* characterized by undulation of rachis branches on yield and its related traits in rice. *Breed. Sci.* 52: 299-307.
- Murai, M., T. Komazaki y S. Sato (2004).** Effects of *sd1* and *Ur1* (Undulate rachis-1) on lodging resistance and related traits in rice. *Breeding Science* 54: 333-340.
- Murai, M., y T. Kinoshita (1986).** Diallel analysis of traits concerning yield in rice. *Jpn J Breed* 36 : 7-15.
- Murthy, B.N. y M.V. Rao (1980).** Evolving a suitable index for lodging resistance in barley. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 40: 253-261.
- Nadaf, K., J.V. Goud y R. Parameshwarappa (1993).** Genetic studies in rice (*Oryza sativa* L.) - inheritance of white belly. *Karnataka J. Agric. Sci.* 6: 54.
- Nagai, I. (1958).** Japonica Rice: Its Breeding and Culture. Yokendo Ltd., Tokyo, pp: 834.
- Nagano, S. y M. Takahashi (1963).** Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice: XXVII. Genetical studies on rice plant. *J Fac Agr, Hokkaido Univ, Sapporo* 53: 72-130.
- Nagao, S. y M. Takahashi (1963).** Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. Genetical studies on rice plant. XXVII *J. Fac. Agri. Hokkaido Univ.* 53: 72-130.

- Nakagahra, M. (1972).** Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. *Jap. J. Breed.* 22: 232-238.
- Nakagahra, M. (1981).** New distorted inheritance of the marker located on chromosome 3 in wide crosses of rice, *Oryza sativa* L. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. Ser.* 32: 15-44.
- Nakagahra, M., T. Omura y N. Iwata (1972).** Gametophyte genes and their loci on the eleventh linkage group of cultivated rice. *Jap. J. Breed.* 22: 305-312.
- Nanda, J.S. y S.S. Virmani (2001).** Hybrid rice. En: Nanda (ed.) Rice breeding and genetics. Science Publishers, Enfield (New Hampshire, USA).
- Nilsson-Ehle, H. (1909).** Kreuzungsuntersuchungen an Halber und Weizen. *Acta Univ. Lund. Ser. II, 5:* 1-122.
- Ogata, T., Y. Matsue y Y. Hamachi (2000).** Selection for effectiveness of lodging tolerance by using pushing resistance for improving rice cultivar adapted to direct sowing culture in flooded paddy fields. *Japanese Journal of crop science* 69: 159-164.
- Ogi, Y., H. Kato, K. Maruyama y F. Kikuchi (1993).** The effects on the culm length and other agronomic characters caused by semidwarfing genes at the *sd-1* locus in rice, *Jpn. J. Breed.* 43: 267-275.
- Ohe, M., A. Tamura y H. Mimoto (1996).** Effects of deep water treatment on the growth of culm and the lodging resistance in japonica type paddy rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Jpn. J. Crop. Sci.* 65: 238-244.
- Oka, H.I. (1953).** The mechanism of sterility in the intervarietal hybrid. (Phylogenetic differentiation of the cultivated rice, VI). *Jpn. J. Breed.* 2: 217-224.
- Oka, H.I. (1957).** Genic analysis for the sterility of hybrids between distantly related varieties of cultivated rice. *J. Genet.* 55: 397-409.
- Oka, H.I. (1978).** Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XXI. The sporophytic pollen sterility: its genetic basis and intervarietal relationships as shown by F₂ sterility. *Jpn. J. Genet.* 53: 397-410.
- Oka, H.I. y Y. Doida (1962).** Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XX. Analysis of the genetic basis of hybrid breakdown in rice. *Jpn. J. Genet.* 37: 24-35.

- Oka, H.I. (1974).** Analysis of genes controlling F1 sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77: 521-534.
- Okumoto, Y. y T. Tanisaka (1997).** Trisomic analysis of a strong photoperiod-sensitivity gene *E1* in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 95: 301-307.
- Okumoto, Y., K. Ichitani, H. Inoue y T. Tanisaka (1996).** Photoperiod insensitivity gene essential to the varieties grown in the northern limit region of paddy rice (*Oryza sativa* L.) cultivation. *Euphytica* 92: 63-66.
- Olson, M., L. Hood, C. Cantor y D. Botstein (1989).** A common language for physical mapping of the human genome. *Science* 29; 245(4925): 1434-5.
- Ookawa T y K. Ishihara (1992).** Varietal difference of physical characteristics of culm related to lodging resistance in paddy rice. *Jpn. J. Crop Sci. Soc.* 61: 419-425.
- Ookawa, T. y K. Ishihara (1993).** Varietal difference of the cell wall components affecting the bending stress of the culm in relation to the lodging resistance in paddy rice. *Jpn. J. Crop Sci.* 62: 378-384.
- Orjuela, J., A. Garavito, M. Bouniol, J.D. Arbelaez, L. Moreno, J. Kimball, G. Wilson, J-F. Rami, J. Tohme, S.R. McCouch y M. Lorieux (2010).** A universal core gentic map for rice. *Theor. Appl. Gen.* 120: 563-572.
- Oscá Lluch, J.M. (2001).** Cultivos herbáceos extensivos: Cereales. Editorial de la UPV.
- Parker, P.G., A.A. Snow, M.D. Schug, G.C. Booton y P.A. Fuerst (1998).** What molecules can tell us about population: choosing and using a molecular marker. *Ecology* 79: 361-382.
- Paterson, A.H. (1996).** Making genetic maps. A.H. Paterson (Ed.), *Genome Mapping in plants*, pp: 23-39. R.G. Landes Company, San Diego, California: Academic Press; Austin, Texas.
- Paterson, A.H., Y.R. Lin, Z. Li, K.F. Schertz, J.F. Doebley, S.R.M. Pinson, S.C. Liu, J.W. Stansel y J.E. Irvine (1995).** Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. *Science* 269: 1714-1718.

- Peng, S., K.G. Cassman, S.S. Virmani, J. Sheehy y G.S. Khush (1999).** Yield Potential trend of tropical rice since the release of IR8 and the challenge of increasing rice yield potential. *Crop Sci.* 39: 1552-1559.
- Peng, S., R.C. Laza, R.M. Visperas, G.S. Khush y P. Virk (2005).** Progress in breeding the new plant type for yield improvement: a physiological view. En: *Rice is life: scientific perspectives for the 21st century*. pp: 130-132. Eds.: Toriyama K., Heong K.L. y Hardy B. I.R.R.I., Los Baños, Filipinas.
- Perera, A.L.T., D. Senadhira, M.J. Lawrence (1986).** Genetic architecture of economically important characters and prediction of performance of recombinant inbred lines in rice. En: *Rice Genetics*. IRRI, Manila, Philippines, pp: 564-578.
- Perera, A.L.T., M. Fahim, S. Sriyoheswaran, M.P. Dhanapala, D. Senadhira y M.J. Lawrence (1998).** Quantitative genetics of rice I. Evidence of unexploited genetical variation for yield and other quantitative characters in modern indica cultivars. *Field Crops Research* 55: 245-256.
- Pingali, P., M. Hossain y R. Gerpacio (1997).** Asian rice bowls: the returning crisis. CAB International and IRRI, Manila, Philippines.
- Pinthus, M.L. (1973).** Lodging in wheat, barley, and oats. The phenomenon, its causes, and preventative measures. *Adv. Agron.* 25: 210-256.
- Price, A.H., E.M. Young y A.D. Tomos (1997).** Quantitative trait loci associated with stomatal conductance, leaf rolling and heading date mapped in upland rice (*Oryza sativa*). *New Phytol.* 137: 83-91.
- Qian, Q., P. He, S. Teng, D.L. Zeng y L.H. Zhu (2001).** QTL analysis of tiller angle in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genet. Sin.* 28: 29-32.
- Rabiei, B., M. Valizadeh, B. Ghareyazie, M. Moghaddam y A.J. Ali (2004).** Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. *Euphytica* 137: 325-332.
- Rafalski, A. (2002).** Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 94-100.
- Raju, G.N. y T. Srinivas (1991).** Effect of physical, physiological and chemical factors on the expression of chalkiness in rice. *Cereal Chemistry* 68: 210-211.

- Rao, S.A., M.A. Khan, T. McNeilly y A.A. Khan (1997).** Cause and effect relations of yield and yield components in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Genet. Breed.* 51: 1-5.
- Reddy, P., N. Sarla, L.V. Reddy y E.A. Siddiq (2005).** Identification and mapping of yield and yield related QTLs from an Indian accession of *Oryza rufipogon*. *BMC Genetics*, 6: 33.
- Redoña, E.D. y D.J. Mackill (1998).** Quantitative trait locus analysis for rice panicle and grain characteristics. *Theor. Appl. Genet.* 96: 957-963.
- Rha, E.S., F.S. Thseng y S.T. Wu (1995).** Distorted segregation of marker genes in wide crosses of rice. I. *d-1*, *gh-1* and *nl-1* genes located in the chromosome 5. *J. Agri. Assoc. China* 170: 104-123.
- Risch, N. (1992).** Genetic linkage: Interpreting LOD scores. *Science* 255: 803-804.
- Robertson, D.S. (1985).** A possible technique for isolating genie DNA for quantitative traits in plants. *J. Theor. Biol.* 117: 1-10.
- Romero-Severson, J., J. Lotzer, C. Brown y M. Murray (1989).** Use of RFLPs for analysis of quantitative trait loci in maize. En: *Development and application of molecular markers to problems in plant genetics*. Editores: T. Helentjaris y B. Burr. Cold Spring Harbor Lab. Cold Spring Harbor. Nueva York. pp: 97-102.
- Ruiz, C., M.P. Breto y M.J. Asíns (2000).** A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers. *Euphytica* 112: 89-94.
- Rutger, J.N., K.S. McKenzie, K.A.K. Moldenhauer, A.M. McClung, K.A. Gravois, S.D. Linscombe y D.G. Kanter (2001).** Rice quality breeding efforts in the USA. pp: 311-315. En: Chaudhary RC, Tran DV and Duffy R (eds), *Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing*. Science Publishers Inc, Enfield, USA.
- Ryu, C.H., J.H. You, H.G. Kang, J. Hur, Y.H. Kim, M.J. Han, K. An, B.C. Chung, C.H. Lee y G. An (2004).** Generation of T-DNA tagging lines with a bidirectional gene trap vector and the establishment of an insertion-site database. *Plant Mol. Biol.* 54: 489-502.
- Saif-ur-Rasheed, M., H.A. Sadaqat y M. Babar (2002).** Inter-relationship among grain quality traits of rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant Sciences* 1: 245-247.

- Saito, H., Q. Yuan, Y. Okumoto, K. Doi, A. Yoshimura, H. Inoue, M. Teraishi, T. Tsukiyama y T. Tanisaka (2009).** Multiple alleles of *Early flowering 1* locus making variation in the basic vegetative growth period in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 119: 315-323.
- Sakamoto, T., K. Miura, H. Itoh, T. Tatsumi, M. Ueguchi-Tanaka, K. Ishiyama, M. Kobayashi, G.K. Agrawal, S. Takeda, K. Abe, A. Miyao, H. Hirochika, H. Kitano, M. Ashikari y M. Matsuoka (2004).** An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice. *Plant Physiol.* 134: 1642-1653.
- Sallaud, C., C. Gay, P. Larmye, M. Bès, P. Piffanelli, B. Piégu, G. Droc, F. Regad, E. Bourgeois, D. Meynard, C. Périn, X. Sabau, A. Ghesquière, J.C. Glaszmann, M. Delseny, y E. Guiderdoni (2004).** High throughput T-DNA insertion mutagenesis in rice: a first step towards in silico reverse genetics. *Plant J.* 39: 450-464.
- Sano, Y. (1990).** The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125: 183-191.
- Sasaki, A., M. Ashikari, M. Ueguchi-Tanaka, H. Itoh, A. Nishimura, D. Wapan, K. Ishimaya, T. Saito, M. Kobayashi, G.S. Khush, H. Kitano y M. Matsuoka (2002).** Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature* 416: 701-702.
- Sato, K. (1957).** Studies on the starch contained in the tissue of rice plant: IV. Starch content in the culm related to lodging. *Jpn. J. Crop. Sci.* 26: 19-19.
- Sato, Y., N. Sentoku, Y. Miura, H. Hirochika, H. Kitanno y M. Matsuoka (1999).** Loss-of-function mutations in the rice homeobox gene *OSH15* affect the architecture of internodes resulting in dwarf plants. *EMBO J.* 18: 992-1002.
- Sax, K. (1923).** The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560.
- Schlotterer, C. y D. Tautz (1992).** Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, 20: 211-215.
- Seko, H. (1962).** Studies on lodging in rice plants. *Bull. Kyusyu Agr. Exp. Sta.* 7: 419-499.
- Septiningsih, E.M., J. Prasetyono, E. Lubis, T.H. Tai, T. Tjubaryat, S. Moeljopawiro y S.R. McCouch (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*. Theor. Appl. Genet. 107: 1419-1432.

Smith, H. y G.C. Whitelam (1997). The shade avoidance syndrome - multiple responses mediated by multiple phytochromes. Plant, Cell and Environment 20: 840-844.

Song, X.J., W. Huang, M. Shi, M.Z. Zhu y H.X. Lin (2007). A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RINGtype E3 ubiquitin ligase. Nat. Genet. 39: 623-630.

Spielmeier, W., M.H. Ellis y P.M. Chandler (2002). *Semidwarf* (*sd-1*), "green revolution" rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 9043-9048.

Stanca, A.M., G. Jenkins y P.R. Hanson (1979). Varietal responses in spring barley to natural and artificial lodging and to a growth regulator. J. Agric. Sci. Camb. 93: 449-456.

Stuber, C.W., M. Polacco y M.L. Senior (1999). Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential. Crop Sci. 39: 1571-1583.

Sugano, S., C. Andronis, M.S. Ong, R.M. Green y E.M. Tobin (1999). The protein kinase CK2 is involved in regulation of circadian rhythms in *Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 12362-12366.

Sugano, S., C. Andronis, R.M. Green, Z.Y. Wang y E.M. Tobin (1998). Protein kinase CK2 interacts with and phosphorylates the *Arabidopsis* circadian-associated 1 protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 11020-11025.

Suh, H.S., J.D. Kim, M.H. Heu y G.S. Chung (1990). Linkage relationships between genetic male sterile and marker genes in rice. En: Rice genetics II – Proc. 2nd Int. Rice Genet. Symp. IRRI, Manila, Philippines, pp: 121-125.

Suh, J.P., S.N. Ahn, Y.C. Cho, K.H. Kang, I.S. Choi, Y.G. Kim, H.S. Suh y H.C. Hong (2005). Mapping of QTLs for yield traits using an advanced backcross population from a cross between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. Korean J. Breed. 37: 214-220.

- Sunohara, H., H. Satoh y Y. Nagato (2003).** Mutations in panicle development affect culm elongation in rice. *Breed. Sci.* 53: 109-117.
- Sunohara, H., K. Miura, X. Wu, T. Saeda, S. Mizuno, M. Ashikari, M. Matsuoka y H. Kitano (2006).** Effects of *Ssi1* gene controlling dm-type internode elongation pattern of lodging resistance and panicle characters in rice. *Breed. Sci.* 56: 261-268.
- Tabata, M., H. Hirabayashi, Y. Takeuchi, I. Ando, Y. Iida y R. Ohsawa (2007).** Mapping of quantitative trait loci for the occurrence of white-back kernels associated with high temperatures during the ripening period of rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sc.* 57: 47-52.
- Takahashi, E. (1995).** Uptake mode and physiological functions of silica. En: Matsuo T, K Kumazawa, R Ishii, K Ishihara, H Hirata (eds). *Science of the rice plant. Vol. 2. Physiology, Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo*.pp: 1-111.
- Takahashi, J. (1960).** Some thoughts on the lodging of rice plants. *Agric. Hortic.* 35: 19-23
- Takahashi, Y., A. Shomura, T. Sasaki y M. Yano (2001).** *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 7922-7927.
- Takamure, I. y T. Kinoshita (1994).** Genic analysis for a small grain mutant induced from cultivar Kitaake. *Rice Genet. Newsl.* 11: 89-91.
- Takamure, I., M.C. Hong y T. Kinoshita (1995).** Genetic analyses for two kinds of mutants for long grain. *Rice Genet. Newsl.* 12: 199-201.
- Takaya, T. y A. Miyasaka (1983).** Prevention of lodging of rice plants under direct sowing culture on well-drained paddy field. *Jpn. J. Crop Sci.* 52: 7-14.
- Takeda, K. y K. Saito (1977).** The inheritance and character expression of the minute gene derived from a rice genetic tester Minute. *Bull. Fac. Agric. Hirosaki Univ.* 27: 1-29.
- Takeda, K. y K. Saito (1980).** Major genes responsible for grain shape in rice. *Jpn. J. Breed.* 30: 280-282.

- Takeda, K. y M. Takahashi (1969).** Preliminary report on cross experiments in six types of internodes pattern in rice culm- Genetical studies on rice plant, XXXVIII-. Men. Fac. Agrc. Hokkaido Univ. 7: 44-50.
- Takeda, K. y T. Kato (1992).** Duplicate genes controlling long grain of a rice variety IRAT13. Rice Genet. Newsl. 9: 59-60.
- Tan, Y. F., J.X. Xing, J.X. Li, S.B. Yu, C.G. Xu y Q. Zhang (2000).** Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid. Theor. Appl. Genet. 101: 823-829.
- Tan, Z., L. Shen, H. Kuang, C. Lu, Y. Chen, K. Zhou y L. Zhu (1996).** Identification of QTLs for lengths of the top internodes and other traits in rice and analysis of their genetic effects. Acta Genet. Sin. 23: 439-446.
- Tanaka, K., K. Murata, M. Yamazaki, K. Onosato, A. Miyao y H. Hirochika (2003).** Three distinct rice cellulose synthase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall. Plant Physiol. 133: 73-83.
- Tanksley, S. D. (1993).** Mapping polygenes. Annual Review of genetics, 27: 205-233.
- Taylor, N.G., W.R. Scheible, S. Cutler, C.R. Somerville y S.R. Turner (1999).** The *irregular xylem3* locus of Arabidopsis encodes a cellulose synthase required for secondary cell wall synthesis. Plant Cell. 11: 769-779.
- Temnykh, S., W.D., N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii y S.R. McCouch (2000).** Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 100: 697-712.
- Terashima, K., S. Akita y N. Sakai (1992).** Eco-physiological characteristics related with lodging tolerance of rice in direct sowing cultivation. I. Comparison of the root lodging tolerance among cultivars by the measurement of pushing resistance. Jpn. J. Crop Sci. 61: 380-387.
- Terashima, K., T. Ogata y S. Akita (1994).** Eco-physiological characteristics related with lodging tolerance of rice in direct sowing cultivation. II. Root growth characteristics of tolerant cultivars to root lodging. Jpn. J. Crop Sci. 63: 43-41.
- Thoday, J.M. (1961).** Location of polygenes. Nature, 191: 368-370.

- Thompson, J. N. (1975).** Quantitative variation and gene number. *Nature* 258: 665-668.
- Thomson, M. J., T.H. Tai, A.M. McClung, X.H. Lai, M.E. Hinga, K.B. Lobos, Y. Xu, C. P. Martinez y S. R. McCouch (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. *Theor. Appl. Genet.* 107: 479-493.
- Tian, F., D.J. Li, Q. Fu, Z.F. Zhu, Y.C. Fu, X.K. Wang y C.Q. Sun (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. *Theor. Appl. Genet.* 112: 570-580.
- Tinarelli, A. (1989).** "El Arroz" (edición española). Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Tripathi, S.C., K.D. Sayre, J.N. Kaul y R.S. Narang (2003).** Growth and morphology of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) culms and their association with lodging: effects of genotypes, N levels and ethephon. *Field Crops Res* 84: 271-290.
- Tsuji, H., S. Tamaki, R. Komiya y K. Shimamoto (2008).** Florigen and the photoperiodic control of flowering in rice. *Rice* 1: 25-35.
- Ueda, S. y I. Ota (1961).** Crop-scientific studies on white-core kernels of rice. Part VI. Kinds of white-core kernels of rice and their characteristics. *Bull. Fac. Agric. Mie Univ., Tsu, Japón* 24: 1-15.
- Van Deynze, A.E., J.C. Nelson, E.S. Yglesias, S.E. Harrington, D.P. Braga, S.R. McCouch y M.E. Sorrells (1995a).** Comparative mapping in grasses. Wheat relationships. *Mol. Gen. Genet.* 248: 744-754.
- Van Deynze, A.E., J.C. Nelson, L.S. O'Donoghue, S.N. Ahn, W. Siripoonwiwat, S.N. Harrington, E.S. Yglesias, D. Braga, S.R. McCouch y M.E. Sorrells (1995b).** Comparative mapping in grasses. Oat relationships. *Mol. Gen. Genet.* 249: 349-356.
- Van Ooijen, J.W. (2004).** MapQTL® 5, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.

- Van Ooijen, J.W. (2006).** JoinMap® 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- Vaughan, D.A., H. Morishima y K. Kadowaki (2003).** Diversity in the *Oryza* genus. *Curr. Opinion Plant Biol.* 6: 139-146.
- Venuprasad, R., H.E. Shashidhar, S. Hittalmani y G.S. Hemamalini (2002).** Tagging quantitative trait loci associated with grain yield and root morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under contrasting moisture regimes. *Euphytica* 128: 293-300.
- Voorrips, R.E. (2002).** MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93: 77-78.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Vandele, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper y M. Zabeau (1995).** AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Wan, X.Y., J.M. Wan, J.F. Weng, L. Jiang, J.C. Bi, C.M. Wang y H.Q. Zhai (2005).** Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1334-1346.
- Wan, X.Y., J.M. Wan, L. Jiang, J.K. Wang, H.Q. Zhai, J.F. Weng, H.L. Wang, C.L. Lei, J.L. Wang, X. Zhang, Z.J. Cheng y X.P. Guo (2006).** QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1258-1270.
- Wang, S., C.J. Basten y Z.B. Zeng (2005).** Windows QTL Cartographer. 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>). 2.5.
- Wang, Y. y J. Li (2005).** The plant architecture of rice (*Oryza sativa*). *Plant Molec. Biol.* 59: 75-84.
- Wang, Z., Y.J. Gu, G. Chen, F. Xiong y Y.X. Li (2003).** Rice quality and its affecting factors. *Mol. Plant Breed.* 1: 231-241.
- Wang, Z.Y. y S.D. Tanksley (1989).** Restriction fragment length polymorphism in *Oryza sativa* L. *Genome* 32: 1113-1118.

- Watanabe, T. (1985).** Studies on lodging resistance in rice breeding I. Grouping of cultivars based on principal component analysis for plant characters associated with lodging resistance. *Bull. Natl. Inst. Agr. Sci.* D 36: 147-196
- Webb, B.D. (1985).** Criteria of rice quality in the United States. pp: 403-442. En: B.O. Juliano (ed), *Rice Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists, St Paul, Minnesota.
- Webb, B.D. (1991).** Rice quality and grades. pp: 89-119. En: B.S. Luh (ed), *Rice production and Utilization*, volume II. AVI, New York.
- Weber, C.R. y W.R. Ferh (1966).** Seed yield losses from lodging and combine harvesting in soybeans. *Agron. J.* 58: 287-289.
- Weber, J. L. y P. E. May (1989).** An abundant new class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388-396.
- Welsh. J. y M. McClelland (1990).** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18: 7213-7218.
- Weng, J., S. Gu, X. Wan, H. Gao, T. Guo, N. Su, C. Lei, X. Zhang, Z. Cheng, X. Guo, J. Wang, L. Jiang, H. Zhai y J. Wan (2008).** Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Research* 18: 1199-1209.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski y S.V. Tingey (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 22: 6531-6535.
- Wolfe, A. D. y A. Liston (1998).** Contributions of PCR-based methods to Plant Systematics and evolutionary Biology. pp: 43-86 en: *Molecular Systematics of Plants II. DNA Sequencing*, eds. D.E. Soltis, P.S. Soltis and J.J. Doyle. Dordrecht: Kluwer, New York, USA.
- Won, J.G., Y. Hirahara, T. Yoshida y S. Imabayashi (1998).** Selection of rice lines using SPGP seedling method for direct seeding. *Plant Prod. Sci.* 1: 280-285.
- Wu, P., G. Zhang y N. Huang (1996).** Identification of QTLs controlling quantitative characters in rice using RFLP markers. *Euphytica* 89: 349-354.

- Xiao, J., J. Li, L. Yuan y S.D. Tanksley (1995).** Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice as revealed by QTL analysis using molecular markers. *Genetics* 140: 745-754.
- Xiao, J., J. Li, L. Yuan y S.D. Tanksley (1996).** Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific cross. *Theor. Appl. Genet.* 92: 230-244.
- Xiao, J., J. Li, S. Grandillo, S.N. Ahm, L. Yuan, S.D. Tanksley y S.R. McCouch (1998).** Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics* 150: 899-909.
- Xiao, S.H., X.Y. Zhang, C.S. Yan, W.X. Zhang, L. Hai y H.J. Guo (2002).** Determination of resistance to lodging by stem strength in wheat. *Agric Sci China* 35: 7-11.
- Xie, X., M-H. Song, F. Jin, S-N. Ahn, J-P. Suh, H-G. Hwang y S.R. McCouch (2006).** Fine mapping of a grain weight quantitative trait locus on rice chromosome 8 using near-isogenic lines derived from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.* 113: 885-894.
- Xing, Y.Z., Y.F. Tan, C.G. Xu, J.P. Hua y X.L. Sun (2001).** Mapping quantitative trait loci for grain appearance traits of rice using a recombinant inbred line population. *Acta Bot. Sin.* 43: 721-726.
- Xing, Y.Z., Y.F. Tan, J.P. Hua, X.L. Sun, C.G. Xu y Q. Zhang (2002).** Characterization of the main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTLs on the genetic basis of yield traits in rice. *Theor. Appl. Genet.* 105: 248-257.
- Xiong, L.Z., K.D. Liu, X.K. Dai, C.G. Xu y Q. Zhang (1999).** Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F2 population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.* 98: 243-251.
- Xiong, Z.M. (1992).** Research outline on rice genetics in China. En: Xiong ZM, Cai HF (eds). *Rice in China*. Chinese Agricultural Science Press, Beijing, pp: 40-57.
- Xu, Y., L. Zhu, J. Xiao, N. Huang y S.R. McCouch (1997).** Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F2 , backcross,

doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.) Mol. Gen. Genet. 253: 535-545.

Xu, Y., S.R. McCouch y Q. Zhang (2005). How can we use genomics to improve cereals with rice as a reference genome? Plant Molec. Biol. 59: 7-26.

Xu, Y.B. y Z.T. Shen (1993). Genetic analysis of tiller angle in early indica rice. J. Zhe Jiang Agric. Univ. 5: 1-5.

Xue, Y. y Z. Xu (2002). An introduction to the China Rice Functional Genomics Program. Comp. Funct. Genomics 3: 161-163.

Yagi, T. (1983). Studies on breeding for culm stiffness in rice. 1. Varietal differences in culm stiffness and its related traits. Jpn. J. Breed. 33: 411-422.

Yamagata, H. (1997). Differentiation and inheritance of characters. Chapter 2. Inheritance of morphological characters. En: Science of the rice plant, Genetics (Vol. 3) pp: 277-285. Eds.: Matsuo T., Futsuhara Y., Kikuchi F. y Yamaguchi H. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokio, Japón.

Yamagishi, J., N. Miyamoto, S. Hirotsu, R.C. Laza y K. Nemoto (2004). QTLs for branching, floret gformation, and pre-flowering floret abortion of rice panicle in a temperate japonica x tropical japonica cross. Theor. Appl. Genet. 109: 1555-1561.

Yamamoto, E., T. Takashi, Y. Morinaka, S. Lin, J. Wu, T. Matsumoto, H. Kitano, M. Matsuoka y M. Ashikari (2010). Gain of deleterious function causes an autoimmune response and Bateson-Dobzhansky-Muller incompatibility in rice. Mol. Genet. Genomics. 283: 305-15.

Yamamoto, T., A. Nishikawa, Y. Nakajima, K. Oeda y H. Hirohara (1997b). Genetic and morphological studies on glabrousness of a somaclonal variant induced by anther culture in rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science. 47: 1-6.

Yamamoto, T., F.T. Shiobara, Y. Ukai, T. Sasaki y M. Yano (2001). Mapping quantitative trait loci for days-to-heading, and culm, panicle and internode lengths in a BC1F3 population using an elite rice variety, Koshihikari, as the recurrent parent. Breeding Sci. 51: 63-71.

Yamamoto, T., H.X. Lin, T. Sasaki y M. Yano (2000). Identification of heading date quantitative trait locus *Hd6* and characterization of its epistatic interactions with *Hd2* in rice using advanced backcross progeny. Genetics 154: 885-891.

- Yamamoto, T., T. Sasaki y M. Yano (1997a).** Genetic analysis of spreading stub using *indica/japonica* backcrossed progenies in rice. *Breed. Sci.* 47: 141–144.
- Yamamoto, T., Y. Kuboki, S.Y. Lin, T. Sasaki y M. Yano (1998).** Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2* and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. *Theor. Appl. Genet.* 97: 37-44.
- Yamamuro, C., Y. Ihara, X. Wu, T. Noguchi, S. Fujioka, S. Takatsuto, M. Ashikari, H. Kitano y M. Matsuoka (2000).** Loss of function of a rice *brassinosteroid insensitive 1* homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell.* 12: 1591-1606.
- Yan, C-J., J-H. Zhou, S. Yan, F. Chen, M. Yeboah, S-Z. Tang, G-H. Liang y M-H. Gu (2007).** Identification and characterization of a major QTL responsible for erect panicle trait in japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 115: 1093-1100.
- Yan, J.Q., J. Zhu, C.X. He, M. Benmoussa y P. Wu (1998a).** Molecular dissection of developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics* 150: 1257-1265.
- Yan, J.Q., J. Zhu, C.X. He, M. Benmoussa y P. Wu (1998b).** Quantitative trait loci analysis for the developmental behavior of tiller number in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 97: 267-274.
- Yan, J.Q., J. Zhu, C.X. He, M. Benmoussa y P. Wu (1999).** Molecular marker-assisted dissection of genotype x environment interaction for plant type traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Sci.* 39: 538-544.
- Yang, G., Y. Xing, S. Li, J. Ding, B. Yue, K. Deng, Y. Li y Y. Zhu (2006).** Molecular dissection of developmental behavior of tiller number and plant height and their relationship in rice (*Oryza sativa* L.). *Hereditas* 143: 236-245.
- Yang, J., J. Zhang, Z. Huang, Q. Zhu y L. Wang (2000).** Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil-drying during grain filling of wheat. *Crop Sci.* 40: 1645-1655.
- Yang, J., J. Zhang, Z. Wang y Q. Zhu (2001).** Activated of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J. Exp. Bot.* 52: 2169-2179.
- Yano, M., S. Kojima, Y. Takahashi, H. Lin y T. Sasaki (2001).** Genetic control of flowering time in rice, a short-day plant. *Plant Physiol.* 127: 1425-1429.

- Yano, M., Y. Harushima, Y. Nagamura, N. Kurata, Y. Minobe y T. Sasaki (1997).** Identification of quantitative trait loci controlling heading date in rice using a high-density linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1025-1032.
- Yano, M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura y T. Sasaki (2000).** *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *The Plant Cell* 12: 2473-2483.
- Yokoo, M. y K. Okuno (1993).** Genetic analysis of earliness mutations induced in the rice cultivar 'Norin' 8. *Jpn. J. Breed.* 43: 1-11.
- Yokoo, M., F. Kikuchi, A. Nakane y H. Fujimaki (1980).** Genetic analysis of heading date by aid of close linkage with blast resistance in rice. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Ser. D* 31: 95-126.
- Yoon, D.B., K.H. Kang, H.J. Kim, H.G. Ju, S.J. Kwon, J.P. Suh, O.Y. Jeong y S.N. Ahn (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 Hwaseongbyeon. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1052-1062.
- Yoshida, S., M. Ikegami, J. Kuze, K. Sawada, Z. Hashimoto, T. Ishii, C. Nakamura y O. Kamijima (2002).** QTL analysis for plant and grain characters of sake-brewing rice using a doubled haploid population. *Breed. Sci.* 52: 309-317.
- Yoshihara, T. y M. Iino (2007).** Identification of the gravitropism-related rice gene *LAZY1* and elucidation of *LAZY1*-dependent and -independent gravity signaling pathways. *Plant Cell Physiol.* 48: 678-688.
- Young, N.D. (1994).** Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers, pp. 39-57. En: I.K.V. Ronald & L. Phillips (Eds.), *DNA-based markers in plants*. Kluwer, Dordrecht/Boston/London.
- Yu, J., S. Hu, J. Wang, G.K.S. Wong, S. Li, B. Liu, Y. Deng, L. Dai, Y. Zhou, X. Zhang, M. Cao, J. Liu, J. Sun, J. Tang, Y. Chen, X. Huang, W. Lin, C. Ye, W. Tong, L. Cong, J. Geng, Y. Han, L. Li, W. Li, G. Hu, X. Huang, W. Li, J. Li, Z. Liu, L. Li, J. Liu, Q. Qi, J. Liu, L. Li, T. Li, X. Wang, H. Lu, T. Wu, M. Zhu, P. Ni, H. Han, W. Dong, X. Ren, X. Feng, P. Cui, X. Li, H. Wang, X. Xu, W. Zhai, Z. Xu, J. Zhang, S. He, J. Zhang, J. Xu, K. Zhang, X. Zheng, J. Dong, W. Zeng, L. Tao, J. Ye, J. Tan, X. Ren, X. Chen, J. He, D. Liu, W. Tian, C. Tian, H. Xia, Q. Bao, G.**

- Li, H. Gao, T. Cao, J. Wang, W. Zhao, P. Li, W. Chen, X. Wang, Y. Zhang, J. Hu, J. Wang, S. Liu, J. Yang, G. Zhang, Y. Xiong, Z. Li, L. Mao, C. Zhou, Z. Zhu, R. Chen, B. Hao, W. Zheng, S. Chen, W. Guo, G. Li, S. Liu, M. Tao, J. Wang, L. Zhu, L. Yuan y H. Yang (2002a).** A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* 296: 79-92.
- Yu, S.B., J.X. Li, C.G. Xu, Y.F. Tan y X.H. Li (2002b).** Identification of quantitative trait loci and epistatic interactions for plant height and heading date in rice. *Theor. Appl. Genet.* 104: 619-625.
- Yu, S.B., J.X. Li, C.G. Xu, Y.F. Tan, X.H. Gao, X.H. Li, Q. Zhang y M.A. Saghai Maroof (1997).** Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 9226-9231.
- Yu, Z.H., S.R. McCouch, T. Kinoshita, S. Sato y S.D. Tanksley (1995).** Association of morphological and RFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome* 38: 566-574.
- Zane, L., L. Bargelloni y T. Paternello (2002).** Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1-16.
- Zeigler, R.S. y A. Barclay (2008).** The Relevance of Rice. *Rice* 1: 3-10.
- Zelensky, G.L. (2001).** High grain quality rice breeding in Russia. pp: 323-332. En: Chaudhary RC, Tran DV and Duffy R (eds.), *Speciality Rices of the World: Breeding, Production and Marketing*. Science Publishers Inc, Enfield, USA.
- Zeng, Z.B. (1994).** Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.
- Zhang Q.F, M.A.S. Maroof T. Lu y B.Z. Shen (1992).** Genetic diversity and differentiation of *indica* and *japonica* rice detected by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 83: 495-499.
- Zhang, J., H.G. Zheng, A. Aarti, G. Pantuwan, T.T. Nguyen, J.N. Tripathy, A.K. Sarial, S. Robin, R.C. Babu, B.D. Nguyen, S. Sarkarung, A. Blum y H.T. Nguyen (2001).** Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. *Theor. Appl. Genet.* 103: 19-29.

- Zhang, Y., Y. Zhu, Y. Peng, D. Yan, Q. Li, J. Wang, L. Wang y Z. He (2008).** Gibberellin homeostasis and plant height control by *EUI* and a role for gibberellin in root gravity responses in rice. *Cell. Res.* 18: 412-421.
- Zhang, Z.X. y col. (1999).** Effect of lodging resistance on yield and its relationship with stalk physical characteristics. *J Shenyang Agric. Univ.*
- Zhu, L.H., D.B. Zhong, J.L. Xu, S.B. Yu y Z.K. Li (2008).** Differential expression of lodging resistance related QTLs in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science* 175: 898-905.
- Zhuang, J.Y., H.X. Lin, J. Lu, H.R. Qian, S. Hittalmani, N. Huang y K.L. Zheng (1997).** Analysis of QTL environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theor. Appl. Genet.* 95: 799-808.
- Zhuang, J.Y., Y.Y. Fan, Z.M. Rao, J.L. Wu, Y.W. Xia y K.L. Zheng (2002).** Analysis on additive effects and additive-by-additive epistatic effects of QTLs for yield traits in a recombinant inbred line population of rice. *Theor. Appl. Genet.* 105: 1137-1145.
- Zuber, U., H. Winzeler, M.M. Messmer, B. Keller, J.E. Schmid y P. Stamp (1999).** Morphological traits associated with lodging resistance of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Agron. Crop. Sci.* 182: 17-24.

7.2. Directorio web.

FAO: <http://www.fao.org>

FAOSTAT: <http://faostat.fao.org>

Gramene: www.gramene.org

ICIS: www.icis.cgiar.org

IRRI: www.irri.org; www.iris.irri.org

MAPA: <http://www.mapa.es>

NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST

REDB: <http://www.bioinfo.hzau.edu.cn/>

RGP: www.rgp.dna.affrc.go.jp/index.html.en

ANEXO I

Lista de marcadores SSRs cribados: cromosoma en el que se localizan, secuencia de los cebadores y temperatura de apareamiento. Los marcadores en negrita mostraron segregación en la población MS.

| Marcador | Crom. | secuencia del cebador directo | secuencia del cebador reverso | T ^a apar. |
|--------------|-------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| RM462 | 1 | acggcccatataaaagcctc | aagatggcggagtagctcag | 55 |
| RM499 | 1 | taccaaacaccaactgcg | acctgcagatccaaggtacg | 55 |
| RM428 | 1 | aacagatggcatcgcttcc | cgctgcactcactactgttg | 50 |
| RM220 | 1 | ggaaggtactgttccaac | gaaatgctcccacatgtct | 55 |
| RM1 | 1 | gccaataacacaatgcaaaaa | gcgttggtggacctgac | 55 |
| RM522 | 1 | accagagaagccctcctagc | gttctggtgggtcacgttg | 55 |
| RM151 | 1 | ggctgctcatcagctgcatg | tcggcagtggtaggttgatctgc | 55 |
| RM259 | 1 | tggagtttgagaggagg | ctgttgcatggtccatgt | 55 |
| RM294 | 1 | ttggcctagtgctccaatc | gagggtacaactaggacgca | 55 |
| RM488 | 1 | cagctagggtttgaggctg | tagcaacaaccagctatgc | 50 |
| RM246 | 1 | gagctccatcagccattcag | ctgagtgctgctgcgact | 55 |
| RM212 | 1 | ccacttcagctactaccag | caccattgtctctcattatg | 55 |
| RM473 | 1 | tatctcgtctccatcgctc | aaggatgtggcggtagaatg | 55 |
| RM486 | 1 | ccccctctctctctctc | tagccacatcaacagcttg | 55 |
| RM472 | 1 | ccatggcctgagagagagag | agctaaatggccatacggtg | 55 |
| RM104 | 1 | ggaagaggagagaaagatgtgtg | tcaacagacacaccgccaccgc | 61 |
| RM14 | 1 | ccgaggagaggagttcgac | gtgccaatttctcgaaaa | 50 |
| RM165 | 1 | ccgaacgcctagaagcgcgtcc | cgcgaggttgctaattggcgg | 67 |
| RM109 | 2 | gccgccggagaggagagagag | ccccgacgggatctccatcgtc | 67 |
| RM279 | 2 | gcgggagagggatctcct | ggctagaggttaacctcgcg | 55 |
| RM423 | 2 | agcaccatgccttatgttg | ccttttcagtagccctccc | 55 |
| RM555 | 2 | ttggatcagccaaaggagac | cagcattgtggcatggatac | 55 |
| RM174 | 2 | agcgacgccaaagacaagtcggg | tccacgtcagtcgacacgacgg | 67 |
| RM71 | 2 | ctagagggcgaacagagatg | gggtgggcgaggttaataatg | 55 |
| RM492 | 2 | ccaaaaatagcgcgagagag | aagacgtacatgggtcaggc | 55 |
| RM452 | 2 | ctgatcagagcgttaaggg | gggatcaaaccagtttctg | 55 |
| RM438 | 2 | cttatccccctctctctc | ctctctgccaccgatcctac | 55 |
| RM27 | 2 | ttttctctcaccacttca | tcttgacaagaggaaaggagg | 55 |
| RM475 | 2 | cctcagatcttctccaac | acgggtgggattagactgtgc | 55 |
| RM124 | 2 | atcgtctgcgttcggctgctg | catggatcaccgagctcccc | 67 |
| RM263 | 2 | cccaggctagctcatgaacc | gctacgttgtagctaccacg | 55 |
| RM530 | 2 | gcaactgaccagactgtttg | accgtaaccggatctatcc | 55 |
| RM482 | 2 | tctgaaagcctgactcatcg | gtcaattgcagtgcccttc | 55 |
| RM569 | 3 | gacattctcgttctcctc | tgctccctctaaaacctcc | 55 |
| RM231 | 3 | ccagattatctcctgaggtc | cacttgcatagttctgcattg | 55 |
| RM489 | 3 | acttgagacgatcggacacc | tcaccatggatgtgtcag | 55 |
| RM517 | 3 | ggcttactggcttcgatttg | cgctccttggtagtgcc | 55 |
| OSR13 | 3 | cattgtgctgcacggagta | agccacagcggccatctctc | 55 |

| Marcador | Crom. | secuencia del cebador directo | secuencia del cebador reverso | T ^a apar. |
|--------------|-------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| RM7 | 3 | ttgccatgaagtctctcg | cctccatcatttcgttgtt | 55 |
| RM232 | 3 | ccggtatccttcgatattgc | ccgactttctcctctgacg | 55 |
| RM251 | 3 | gaatggcaatggcgctag | atgCGgttaagattcgatc | 55 |
| RM503 | 3 | caccttcacacacacacac | gccccactaacaaaaccaag | 55 |
| RM564 | 3 | catggccttgatgcatc | atgcagaggattggcttgag | 55 |
| RM347 | 3 | cacctcaaacctttaaccgcac | tccggcaagggatacggcgg | 55 |
| RM411 | 3 | acaccaactcttgctgcat | tgaagcaaaaacatggctagg | 55 |
| RM16 | 3 | cgctagggcagcatctaaaa | aacacagcaggtacgcgc | 55 |
| RM135 | 3 | ctctgtctcctccccgctcg | tcagctctggccgctcctc | 61 |
| RM168 | 3 | tgctgcttgctgctccttt | gaaacgaatcaatccacggc | 55 |
| RM422 | 3 | ttcaacctgcatccgctc | ccatccaatcagcaacagc | 55 |
| RM514 | 3 | agattgatctcccattccc | cacgagcatattactagtgg | 55 |
| RM148 | 3 | atacaacattagggatgaggctgg | tccttaaagtggtgcaatcgag | 55 |
| RM335 | 4 | gtacacaccacatcgagaag | gctctatgcgagatccatgg | 55 |
| RM261 | 4 | ctacttcccccttgctg | tgtaccatcgccaaatctcc | 55 |
| RM456 | 4 | ttgtagtccgggtcgaacc | gatagaataggagggggggg | 55 |
| RM119 | 4 | catccccctgctgctgctg | cgccggatgtgtgggactagcg | 67 |
| RM273 | 4 | gaagccgctgctgaagtacc | gttctactctgatcgcgac | 55 |
| RM241 | 4 | gagccaataagatcgctga | tgcaagcagcagatttagtg | 55 |
| RM317 | 4 | catactaccagttcaccgcc | ctggagagtgctcagctagtga | 55 |
| RM348 | 4 | ccgctactaatagcagagag | ggagcttgttctgcgaac | 55 |
| RM131 | 4 | tcctcctcctctgcccactg | cgatgttcgcatggctgctcc | 61 |
| RM280 | 4 | acacgatccactttgcgc | tgtgtcttgagcagccagg | 55 |
| RM146 | 4 | ctattattccctaaccctccataccctcc | caaaaaaacccaaacccccaaaccacc | 55 |
| RM153 | 5 | gcctcgagcatcatcatcag | atcaactgcacttgctgg | 55 |
| RM507 | 5 | cttaagctccagccgaatg | ctcaccctcatcatgcc | 55 |
| RM122 | 5 | gagtcgatgtaatgtcatcagtg | gaaggaggatcgctttgtggac | 55 |
| RM413 | 5 | ggcgattctggatgaagag | acccaccaaaacaagacaac | 50 |
| RM548 | 5 | tcggtgagaaaactgagagtacg | aaggaggccatctcaatgtg | 55 |
| RM13 | 5 | tccaacatggcaagagagag | ggtggcattcgattccag | 55 |
| RM437 | 5 | acaccaaccagatcagggag | agcagcacaaggagagaaac | 50 |
| RM574 | 5 | ggcgaattcttgcaactgg | acggtttgtaggggtcac | 55 |
| RM289 | 5 | ttcatggcacacaagcc | ctgtgcacgaactccaaag | 55 |
| RM169 | 5 | tggtggctccgtgggtagctg | tcccggttcggttcatccctcc | 67 |
| RM164 | 5 | tcttcccgtcactgcagatatcc | gcagccctaatgctacaattcttc | 55 |
| RM430 | 5 | aaacaacgacgtccctgatc | gtgcctccgtggttatgaac | 55 |
| RM188 | 5 | tccgctctcctctcgttccc | gcaacgcacaaccgaaccggc | 55 |
| RM161 | 5 | tgcatgatgagaagcggcgctc | tgtgtcatcagacggcgtcgg | 61 |
| RM440 | 5 | catgcaacaacgtcaccttc | atggttggtaggcaccaaag | 55 |
| RM421 | 5 | agctcaggtgaacatccac | aaccagaacacaaagacccc | 55 |
| RM178 | 5 | tcgctgaaagataagcggcgc | gatcaccgttccctccgctgc | 67 |
| RM87 | 5 | cctctccgatacaccgtatg | gcgaaggtacgaaggaaag | 55 |
| RM334 | 5 | gttcagttcagtgccacc | gaacagagaacagagccacc | 55 |

| Marcador | Crom. | secuencia del cebador directo | secuencia del cebador reverso | T ^a apar. |
|--------------|-------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| RM133 | 6 | ttggattgtttgctggctcgc | ggaacacggggtcggaaagcgac | 61 |
| RM540 | 6 | gcctctggctcatttatgc | ctaggcctgccagattgaac | 55 |
| RM190 | 6 | ctttgtctatctcaagacac | ttgcagatgttctctgatg | 55 |
| RM510 | 6 | aaccggattagttctcgcc | tgaggacgacgacgagattc | 55 |
| RM50 | 6 | actgtaccggctgaagacg | aaattccacgtcagcctcc | 50 |
| RM121 | 6 | accgtcgcctccactttcccc | ttcggggtgccgggtgatgtg | 55 |
| RM136 | 6 | gagagctcagctgctgctctagc | gaggagcgcacgggtgacgcc | 55 |
| RM557 | 6 | gtggcgagatctatgtggtg | gctttgtgtgtgtgtgtg | 55 |
| RM527 | 6 | ggctcgtatctagaaaatccg | ttgcacaggttgcgatagag | 55 |
| RM3 | 6 | ggtaaatggacaatcctatggc | cctccactgtccacatctt | 50 |
| RM541 | 6 | tataaccgacctcagtgccc | ccttactcccagccatgag | 55 |
| RM162 | 6 | gccagcaaaaccaggatccgg | caaggcttgtcggctgcgg | 61 |
| RM295 | 6 | cgagacgagcatcggataag | gatctggtggaggggagg | 55 |
| RM400 | 6 | acaccaggctacccaaactc | cggagagatctgacatgtgg | 55 |
| RM340 | 6 | ggtaaatggacaatcctatggc | gacaaatataaggcagtgctg | 55 |
| RM481 | 7 | tagctagccgattgaatggc | ctccacctcctatgtttg | 55 |
| RM125 | 7 | atcagcagccatggcagcgacc | aggggatcatgtgccgaaggcc | 55 |
| RM2 | 7 | acgtgtcaccgcttctc | atgtccgggatctcatcg | 55 |
| RM214 | 7 | ctgatgatagaaaccttctc | aagaacagctgactcacia | 55 |
| RM542 | 7 | tgaatcaagcccctactac | ctgcaacgagtaaggcagag | 55 |
| RM500 | 7 | gagctgccagagtggaaag | gttacaccgagagccagctc | 55 |
| RM182 | 7 | tgggatgcagagtgagttggc | cgcaggcacggtgcctgtaag | 55 |
| RM234 | 7 | acagtatccaaggccctgg | cacgtgagacaaagacggag | 55 |
| RM478 | 7 | cagctggggaagagagagag | tcagaaactaaacgcacccc | 55 |
| RM248 | 7 | tccttgtgaaatctgttccc | gtagcctagcatggtgcatg | 55 |
| RM337 | 8 | gtaggaaaggaagggcagag | cgatagatagctagatgtggcc | 55 |
| RM408 | 8 | caacgagctaactccgtcc | actgctactgggtagctgacc | 55 |
| RM506 | 8 | cgagctaactccgttctgg | gctacttgggtagctgaccg | 55 |
| RM152 | 8 | gaaaccaccacacctaccg | ccgtagaccttctgaagtag | 55 |
| RM25 | 8 | ggaaagaatgatctttcatgg | ctaccatcaaaaccaatgttc | 55 |
| RM483 | 8 | ctccaccataaaaccggag | acaccggtagctttagacc | 55 |
| RM72 | 8 | ccggcgataaaacaatgag | gcacggtcctaactaaggg | 55 |
| RM44 | 8 | acgggcaatccgaacaacc | tcgggaaaacctaccctacc | 55 |
| RM350 | 8 | tgatcgtcgcgattcccggc | ccccacctgcccctctccc | 55 |
| RM42 | 8 | atcctaccgctgaccatgag | tttgtctacgtggcgtaca | 55 |
| RM284 | 8 | atctctgatactccatccatcc | cctgtacgttgatccgaagc | 55 |
| RM149 | 8 | gctgaccaacgaacctaggccg | gttggaagcctttcctgtaaacg | 55 |
| RM80 | 8 | ttgaaggcgtgaaggag | catcaacctcgtctaccg | 55 |
| RM230 | 8 | gccagaccgtggatgttc | caccgcagctactttcaag | 55 |
| RM433 | 8 | tcgctgaactaaacacagc | agacaaacctggccattcac | 55 |
| RM447 | 8 | cccttgtgctgtctcctctc | acgggcttctcctctc | 55 |
| RM316 | 9 | ctagttgggcatacagatggc | acgcttatatgttacgcaac | 55 |
| RM242 | 9 | ggccaacgtgtgtatgtctc | tatatgccaagacggatggg | 55 |

| Marcador | Crom. | secuencia del cebador directo | secuencia del cebador reverso | T ^a apar. |
|--------------|-------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| RM108 | 9 | tctctgCGcgcacactggcac | cgTgcaccaccaccaccaccac | 67 |
| RM215 | 9 | caaaatggagcagcaagagc | tgagcactcctctctgtag | 55 |
| RM245 | 9 | atgccgccagtgaatagc | ctgagaatccaattatctgggg | 55 |
| RM222 | 10 | cttaaattggccacatgcg | caaagcttccggccaaaag | 55 |
| RM216 | 10 | gcatggccgatggtaaag | tgtataaaaccacacggcca | 55 |
| RM239 | 10 | tacaaaatgctgggtacccc | acatatgggaccacactgtc | 55 |
| RM311 | 10 | tggtagtataggactaacaat | tcctatacacatacaaacatac | 55 |
| RM467 | 10 | ggctctctctctctctctctc | ctcctgacaattcaactcg | 55 |
| RM596 | 10 | atctacacggcgaattgcc | agaagcttcagcctctgcag | 55 |
| RM184 | 10 | atcccattgccaaaaccggcc | tgacactggagagcgggtg | 55 |
| RM271 | 10 | tcagatctacaattccatcc | tcggtgagacctagagagcc | 55 |
| RM171 | 10 | aacgcgaggacacgtacttac | acgagatacgtacgcctttg | 55 |
| RM484 | 10 | tctccctctcaccattgtc | tgctgccctctctctctc | 55 |
| RM147 | 10 | tacggcttcggcggtgattcc | ccccgaatcccacgaaacct | 55 |
| RM333 | 10 | gtacgactacgagtgaccacia | gtcttcgcatcactcgc | 55 |
| RM4 | 11 | ttgacgaggtcagcactgac | agggtgtatccgactcatcg | 61 |
| RM332 | 11 | gcgaaggcgaagggtgaag | catgagtgtatcactcacc | 55 |
| RM167 | 11 | gatccagcgtgaggaacacgt | agtccgaccacaagggtcgtgtc | 61 |
| RM209 | 11 | atatgagttgctgctggtcg | caactgtcatcctcccctcc | 55 |
| RM229 | 11 | cactcacacgaacgactgac | cgcaggttctgtgaaatgt | 55 |
| RM21 | 11 | acagtattccgtaggcacgg | gctccatgaggggtgtagag | 55 |
| RM457 | 11 | ctccagcatggcctttctac | acctgatggtcaaagatggg | 55 |
| RM206 | 11 | cccatgcgttaactattct | cgtccatcgatccgtatgg | 55 |
| RM105 | 11 | gtcgtcgaccatcggagccac | tggtcgagggtgggatcgggtc | 55 |
| RM144 | 11 | tgccctggcgcaaattgatcc | gctagaggagatcagatggtatgcatg | 55 |
| RM224 | 11 | atcgatcgtatcaccaggg | tgctataaaaggcattcggg | 55 |
| RM20 | 12 | atctgtccctgcaggtcat | gaaacagaggcacattcattg | 55 |
| RM19 | 12 | caaaaacagagcagatgac | ctcaagatggacgccaaga | 55 |
| RM453 | 12 | cgcatctctccttctatcg | ctctcctcctggtgtcgtc | 55 |
| RM247 | 12 | tagtgcgatcgtatgtaacg | catatggttttgacaaaagg | 55 |
| RM83 | 12 | actcgtatgacaagttgagg | cacctagacacgatcgag | 55 |
| RM101 | 12 | gtgaatggtaagtgacttaggtggc | acacaacatgttccctcccacg | 55 |
| RM277 | 12 | cggtaaatcatcacctgac | caaggcttgaagggaag | 55 |
| RM511 | 12 | cttcgatccggtgacgac | aacgaaagcgaagtgtctc | 50 |
| RM260 | 12 | actccactatgaccagag | gaacaatccctctacgatcg | 55 |
| RM313 | 12 | tgctacaagtgtcttcaggac | gctcacccttgggtccac | 55 |
| RM309 | 12 | gtagatcacgcaccttctgg | agaaggcctccgggtgaag | 55 |
| RM463 | 12 | ttcccctcctttatggtgc | ttcccctcctttatggtgc | 55 |
| RM519 | 12 | agagagcccctaaattccg | aggtagcgtcacctgtggac | 55 |
| RM270 | 12 | ggccgttgggtctaaaatc | tgccgagtatcatcggcgag | 55 |
| RM235 | 12 | agaagctagggctaacgaac | tcacctggtcagcctctttc | 55 |
| RM17 | 12 | cctcccatcattcgtgtt | tgccctgtattttctctc | 55 |

