

Capacidad de fecundación ovular de cruces recíprocos entre 14 cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) para la obtención de poblaciones F1

Ovular fecundation capacity through reciprocal crosses between 14 rice cultivars (Oryza sativa L. ssp. indica) to obtain F1 population

<https://doi.org/10.5281/zenodo.4432569>

AUTORES: Walter Oswaldo Reyes-Borja^{1*}

Zaida Sulay Miguez Escobar²

Cristina Evangelina Maldonado Camposano³

Lenin Pedro Arana Vera⁴

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: * wreyes@utb.edu.ec

Fecha de recepción: 24 / 09 / 2020

Fecha de aceptación: 28 / 12 / 2020

RESUMEN

La poca disponibilidad de variedades comerciales de arroz (*Oryza sativa* L.), incide para que se implementen programas de mejoramiento genético en el Ecuador. Variedades de la subespecie indica, son las más preferidas para su consumo a nivel nacional. El presente estudio se realizó con los objetivos de obtener poblaciones F1 de arroz tipo indica, mediante cruzamiento simple para el incremento la diversidad genética, y determinar la capacidad de fecundación ovular y formación de semillas para la obtención de poblaciones F1 de arroz provenientes de cruces recíprocos entre 14 cultivares de arroz tipo indica, como

¹Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

²Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

³Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

⁴Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

se mencionan a continuación: BA-100-UTB, BR-101-UTB, CA-102-UTB, FE-103-UTB, FI-104-UTB, FI-105-UTB, FI-106-UTB, FI-107-UTB, SH-108-UTB, FL109-UTB, FL-110-UTB, G-111-UTB, G-112-UTB y G-113-UTB. El ensayo se estableció en el sector del Proyecto CEDEGE, Hacienda Valle Verde, cantón Babahoyo, provincia de Los Ríos. Los resultados mostraron que se obtuvieron un total de 178 cruces, donde todos ellos produjeron, en mayor o en menor grado, semillas formadas a partir de las flores emasculadas. Cuando se realizó el análisis de regresión lineal, resultó que por cada 100 flores emasculadas se obtuvo un total de 34 flores fecundadas. Igualmente, por cada 100 flores emasculadas se logró un total 25 semillas cosechadas. En este estudio se concluyó que, los progenitores de mejor porcentaje de conversión de flores polinizadas a semillas fueron el FL-110-UTB con un 82% y el FE-103-UTB, que presentó un 85%. Se recomienda continuar el estudio con las poblaciones F1, para determinar el comportamiento agronómico y productivo del cultivo, u otros estudios, a través de futuras generaciones hasta lograr un material genéticamente mejorado y adaptado a las condiciones ecuatorianas.

Palabras clave: *Arroz indica, fecundación ovular, polinización, cruces recíprocos, semillas fecundadas F1.*

ABSTRACT

The limited availability of commercial varieties of rice (*Oryza sativa* L.), influences the implementation of genetic improvement programs in Ecuador. Varieties of the indica subspecies are the most preferred for consumption nationwide. The present study was carried out with the objectives of obtaining F1 populations of indica-type rice, by means of simple crossing to increase genetic diversity, and to determine the capacity for ovular fertilization and seed formation to obtain F1 populations of rice from reciprocal crosses, among 14 indica rice cultivars as mentioned following: BA-100-UTB, BR-101-UTB, CA-102-UTB, FE-103-UTB, FI-104-UTB, FI-105-UTB, FI-106-UTB, FI-107 -UTB, SH-108-UTB, FL109-UTB, FL-110-UTB, G-111-UTB, G-112-UTB and G-113-UTB. The trial was established in the CEDEGE Project sector, Valle Verde farm, Babahoyo canton, Los Ríos province, Ecuador. The results showed that a total of 178 crosses were obtained, where all of them produced, to a greater or lesser degree, seeds formed from the emasculated flowers.

When the linear regression analysis was carried out, it turned out that for every 100 emasculated flowers, a total of 34 fertilized flowers were obtained. Likewise, for every 100 emasculated flowers, a total of 25 seeds were harvested. In this study, it was concluded that the parents with the best seed's conversion percentage from pollinated flowers were FL-110-UTB with 82% and FE-103-UTB, which presented 85%. It is recommended to continue the study with the F1 populations of indica rice, to determine the agronomic and productive behavior of the crop, or other studies, through future generations until obtaining a genetically improved material adapted to Ecuadorian conditions.

Keywords: *Indica rice, ovular fertilization, pollination, reciprocal crosses, F1 fertilized seeds.*

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*), constituye uno de los cereales básicos de la dieta humana, representando aproximadamente el 20% de la ingestión mundial de energía y 15% del aporte de proteína. En algunos países del Asia, el consumo de arroz corresponde más de la mitad del aporte energético y proteico de esas poblaciones (Ramírez *et al.*, 2010).

Según Friedmann y Weil (2010), mencionan que los principales países productores de arroz son China e India, ya que entre ambos países agrupan el 50 % de la producción mundial. El promedio de consumo global es de 63,27 kg por habitante, aunque existen diferencias importantes entre las distintas regiones. En algunos países asiáticos el consumo per cápita puede estar en el orden de 220 Kg; mientras que, en América Latina la proporción baja a 27,75 Kg.

En el Ecuador, los cultivares de arroz que se producen son de tipo indica, que por lo general se cultivan en los trópicos, principalmente en los suelos bajos, teniendo un consumo per cápita de 44 kg anuales, aproximadamente. A través del tiempo, los programas de mejoramiento genético nacionales o extranjeros, han obtenido nuevos cultivares de arroz de mayor producción y con características de resistencia a plagas y enfermedades. Éstos se cultivan en las zonas arroceras ecuatorianas, siendo cultivares con granos extralargos, como es el caso del cultivar "Ferón", que es muy apreciada por los productores y piladores. Sin embargo, actualmente domina en el mercado nacional la variedad de arroz "SFL-011", que

tiene una mejor producción, grano largo y transparente de excelente calidad física durante su pilado.

No obstante, son muy pocas las variedades que circulan a nivel de país, que incluso aún se pueden observar entre los productores, cultivares que se encuentran en los mercados desde hace ya muchos años, lo que constituye la existencia de una estrecha variabilidad genética de cultivares. Muchas veces los mismos cultivares se siembran en todos los sectores arroceros, sin considerarse que cada zona productiva, tiene diferentes condiciones de clima y suelo, influyendo así que el rendimiento se exprese en diferentes niveles. Berrio *et al.*, (2016) indican que el conocimiento de la diversidad genética entre cultivares en una región, es importante para planificar estrategias de mejoramiento y reducir la vulnerabilidad genética, debido a apariciones repentinas de plagas o enfermedades.

Por lo antes mencionado, es importante considerar que se debe promover la obtención de nuevos genotipos que se adapten a las zonas productoras de arroz, donde los cultivares expresen todo su potencial genético, para lograr una mejora en la producción nacional. Los programas de mejoramiento genético de arroz que existen en el país, no sólo se deben enfocar en los componentes de rendimiento y caracteres morfológicos, sino que es necesario también tomar en cuenta, la calidad del grano para satisfacer las preferencias del consumidor.

El fitomejoramiento, es la ciencia del desarrollo de plantas para producir nuevas variedades con características deseables. Durante la mejora de un cultivo, los individuos se someten a una ronda de cruza con la finalidad de obtener una nueva variedad con una característica deseada, lo cual incluye una serie de pruebas adicionales antes de su liberación al mercado. El mejoramiento convencional, sigue los principios básicos de selección y cruza entre individuos con características deseables. Además; de estas prácticas, se han incorporado nuevas tecnologías para incrementar y facilitar la obtención de plantas con mejores características (Quiroz, García y Quiroz, 2012).

Existen varias formas de realizar mejoramiento genético, entre ellos la utilización del método de pedigrí, cultivo *in vitro* de anteras, selección masal, retrocruzamientos, etc. que conllevan a la obtención de nuevos materiales, a la ampliación de la variabilidad genética

entre cultivares e identificar combinaciones de progenitores para crear poblaciones diversas e introducir genes deseables a la progenie.

Los cruces recíprocos entre cultivares es una opción para iniciar actividades dentro de un programa de mejoramiento de arroz, el cual exige una serie de metodologías antes de ser implementada, tales como la sincronización de la floración de los cultivares a cruzarse, lo cual se deben sembrar los bloques de cruzamiento a intervalos de 7 a 10 días; la emasculación, que es el proceso de extracción de las anteras contenidas en las florecillas localizadas en las panículas, para dejar florecillas y plantas completamente femeninas, la polinización de las plantas femeninas con el parental masculino, la evaluación de la fecundación a través de la formación de semillas y la cosecha y codificación de las semillas.

De acuerdo con lo que menciona Ávila Castañeda y Cruz García (2011), la fecundación es un proceso muy dinámico derivado de una serie de interacciones entre el gametofito masculino (grano de polen) y el órgano femenino, el gineceo o pistilo. El gineceo está constituido de varias partes, tales como: el estigma compuesto de una superficie receptora de polen, el estilo que es una estructura que conduce a los tubos polínicos, y el ovario que es el órgano que porta los óvulos. De esta manera, el pistilo se encarga de reconocer para aceptar o rechazar los granos de polen que produce la misma planta, pero puede aceptar aquellos granos de polen genéticamente relacionados, para que germinen y sus tubos polínicos alcancen el ovario y ocurra la fecundación de sus óvulos. Este proceso permite a las siguientes generaciones aumentar su diversidad genética.

Por otro lado, la genética que componen cada una de las variedades de arroz de diferentes orígenes, puede influenciar en la fecundación de las semillas y tornarse en valores altos o bajos al momento de la conversión de flores polinizadas a semilla formada. En este estudio los objetivos fueron: 1. Obtener poblaciones F1 de arroz tipo índica, mediante cruzamiento simple, para el incremento la diversidad genética, y 2. Determinar la capacidad de fecundación ovular y formación de semilla para la obtención de poblaciones F1 de arroz provenientes de cruces recíprocos entre 14 cultivares de arroz tipo índica, los cuales son materiales genéticos de importancia que crearán variabilidad genética, para a futuro seleccionar individuos de altos rendimientos, condiciones sanitarias superiores y calidad de

grano que permita satisfacer los mercados locales con nuevas variedades para los productores arroceros del Ecuador.

METODOLOGÍA

I. Ubicación del Lote Experimental

Este trabajo experimental se llevó a cabo en el periodo de marzo a octubre de 2017. Los bloques de hibridación se establecieron la Hacienda Valle Verde, ubicada en el sector del Proyecto CEDEGE, cantón Babahoyo, provincia de Los Ríos, Ecuador; a localizada 17 msnm en las coordenadas geográficas UTM: 9796094 de latitud sur y 668255 de longitud occidental. El promedio anual de precipitación es de 2656 mm; 76% de humedad relativa y temperatura promedio de 25.6 °C (INAMHI, 2017).

II. Material genético

Se utilizaron 14 cultivares de arroz índica, todos con un tipo de grano extra-largo, que se mantienen en el banco de germoplasma de la FACIAG-UTB de diferentes procedencias, a las que se les asignó un código, como se mencionan a continuación: BA-100-UTB, BR-101-UTB, CA-102-UTB, FE-103-UTB, FI-104-UTB, FI-105-UTB, FI-106-UTB, FI-107-UTB, SH-108-UTB, FL-109-UTB, FL-110-UTB, G-111-UTB, G-112-UTB y G-113-UTB.

III. Factor en estudio y tratamientos

El factor en estudio fue la capacidad de fecundación ovular para la obtención de poblaciones F1 de arroz, utilizando 14 progenitores cruzados de manera recíproca (13 como progenitores femeninos y 13 como progenitores masculinos), resultando un total de 182 cruces planificados (tratamientos).

IV. Análisis estadístico

En este estudio se calcularon los Estadígrafos: Total, Media, Mediana, Moda, Varianza, Desviación estándar, Error típico, Curtosis, Coeficiente de asimetría, Variación relativa (%), Máximo, Mínimo, Rango y Tamaño de muestra (n).

Se realizaron también correlaciones lineales Momento producto de Pearson (r) con las variables del estudio. Igualmente se calculó el Coeficiente de determinación (R^2), considerando que no puede haber semillas cosechadas si no hay emasculación, se asume un intercepto de 0. El coeficiente de correlación es una técnica paramétrica que mide el grado

de relación existente entre una variable que está en función de otra (o depende de otra). El coeficiente “r” varía desde -1 hasta $+1$ y se define como la relación entre la covarianza de XY y la media geométrica de sus varianzas.

La fórmula para el cálculo del coeficiente de correlación es:

$$r = \frac{Cov_{xy}}{\sqrt{S^2x(S^2y)}}$$

El coeficiente de determinación se calcula como el coeficiente de correlación elevado al cuadrado. También se realizó el análisis de regresión lineal ($Y = a + b \cdot X$).

Basado en la experimentación previa donde se evidenció una constante en el coeficiente de regresión (b), se fijó un valor de conversión de 25 semillas cosechadas por cada 100 flores emasculadas. Con la finalidad de seleccionar los parentales de arroz que presenten más del 25% de semillas cosechadas en relación al número de flores emasculadas, en esta investigación se aplicó la prueba de *t Student* para probar la media de una muestra aleatoria, de tamaño $n=13$, con un nivel crítico $A = 25$, en poblaciones normalmente distribuidas [N (0.1)] y varianzas homogéneas. Se trata de una prueba de una cola (izquierda), usada para comparar la media de la muestra aleatoria, de la conversión de flores emasculadas a semillas cosechadas, respecto de un valor preestablecido ($A = 25\%$), para seleccionar parentales que son de interés para el mejorador.

Fórmula:

$$T \text{ calculada} = \frac{(\bar{X}-A)}{S_{\bar{x}}}$$

Donde:

$$\begin{aligned} T_{\text{calculada}} &= \text{Estadístico de la prueba} \\ \bar{X} &= \text{Media de la muestra} \\ S_{\bar{x}} &= \text{Error estándar de la muestra} \\ A &= \text{Nivel crítico} \end{aligned}$$

Hipótesis estadísticas:

$H_0: \bar{X} \leq A = 25\%$. Conversión de flores emasculadas a semillas cosechadas.

$H_1: \bar{X} > A$

$= 25\%$. Conversión de flores emasculadas a semillas cosechadas.

Regla de decisión:

Si $t_{\text{calculada}} < t_{0.05}$: Aceptar H_0 .

Si $t_{\text{calculada}} \geq t_{0.05}$: Rechazar H_0 con el 95% de confianza.

Si $T_{\text{calculada}} \geq T_{0.01}$: Rechazar H_0 con el 99% de confianza.

Pregunta de la investigación:

¿La media del parental es mayor que el 25% de la conversión de las flores emasculadas a semillas cosechadas?

V. Manejo del material genético para el establecimiento de los bloques de cruzamiento. En cada uno de los genotipos, se procedió a seleccionar semillas en buenas condiciones fitosanitarias y libre de daño. Se procedió a realizar las respectivas pruebas de germinación de las variedades consideradas, previo a la realización del semillero que servirá para siembra de los cuatro bloques de hibridación. Se colocaron veinte semillas por caja Petri, tratadas con Vitavax en dosis de 0.5 g/L de agua, con el objetivo de proteger la semilla durante el proceso de germinación. Luego, se rotularon las respectivas cajas Petri con el nombre de la variedad y fecha de siembra, procedimiento que determinó la viabilidad de los cultivares utilizados.

Una vez clasificadas las semillas de arroz de los 14 genotipos, se procedió a pregerminar el material que se utilizó en los cuatro bloques. Esto se realizó en cuatro diferentes fechas, con intervalos de siete días para asegurar el cruce recíproco entre todos los cultivares.

Cada bloque constaba de un área de 126.5 m², dejando una distancia de 1 m entre ellos, los cuatro bloques sumaban un área total de 575 m². El trasplante para el establecimiento de los bloques se realizó a los 20 días después de la siembra de los semilleros; sembrando una planta por sitio, a una distancia de 25 cm entre planta y 25 cm entre hilera (Figura 1).

(Figura 1).

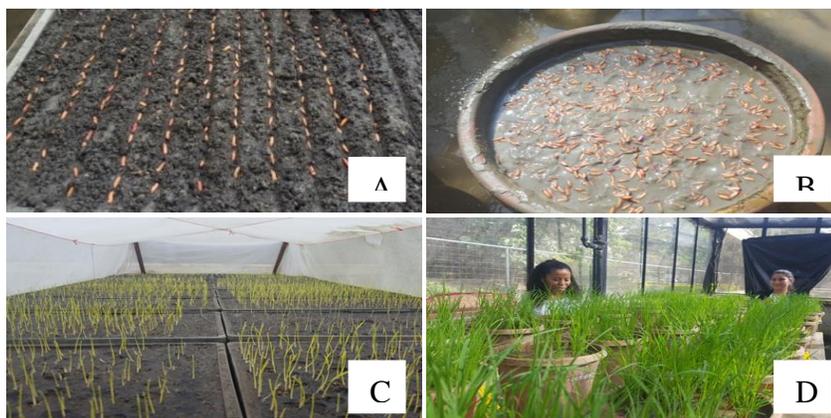
Figura 1. Trasplante de plántulas de arroz a campo definitivo 20 días después de su germinación (A y B).



La selección de semilla de arroz sanas se colocaron 300 semillas de cada material (genotipo), en fundas plásticas de 8” x 12”, con su respectiva rotulación, las mismas que contenía agua y fueron mantenidas en un cuarto a temperatura ambiente.

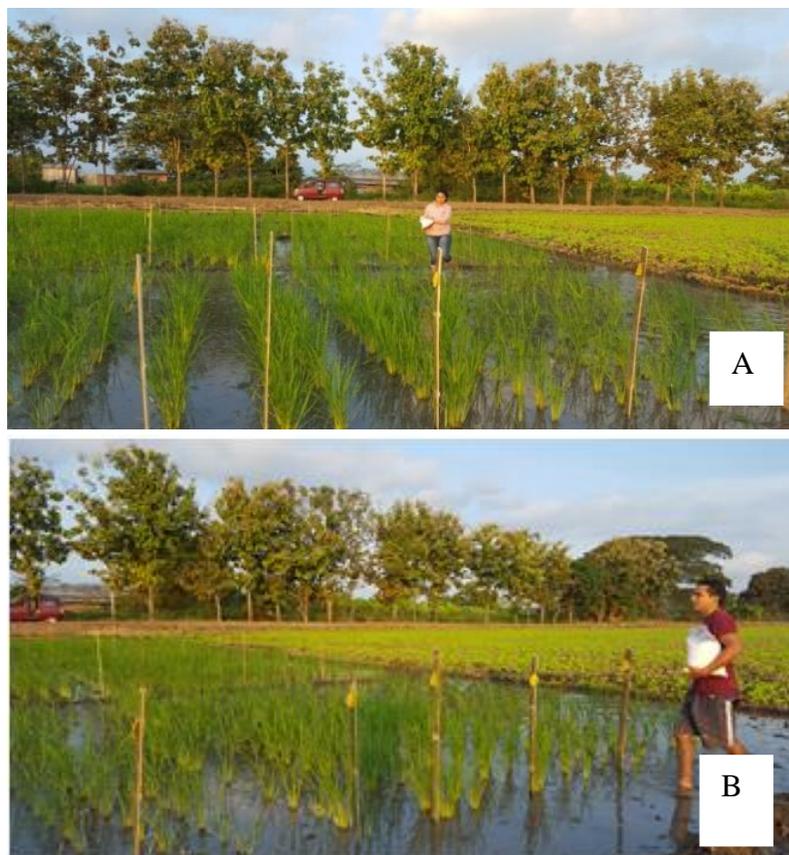
Las semillas fueron desinfectadas con una solución de Vitavax en dosis de 0,5g/L. A los dos días, el agua fue retirada de las fundas y al tercer día, las semillas pregerminadas fueron trasladadas al invernadero de la FACIAG-UTB, sembrándolas en bandejas germinadoras, que contenían suelo agrícola y cascarilla de arroz quemado (sustrato), en el cual se realizaron los respectivos surcos a una profundidad de 1 cm y entre surco de 4 cm, aproximadamente; aunque también algunas fueron colocadas en macetas con suelo fangueado (Figura 2). El riego a los semilleros se realizó con regadera de manera periódica, cada vez que el semillero lo ameritaba.

Figura 2. Semillas pregerminadas colocadas en las bandejas germinadora y en macetas con suelo fangueado (A) y (B); plántulas de 12 días (C). Plántulas de 20 días edad (D).



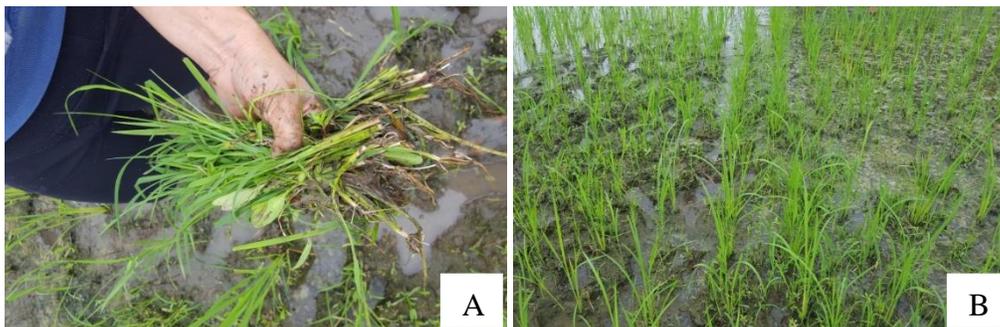
Una vez establecidos todos los bloques de cruzamiento, se realizó la fertilización edáfica a los cuatro lotes; a los 22 días, con una mezcla de tres fertilizantes, cuya dosis fue calculado de acuerdo al área de cada bloque 1430 g de Sulfato de amonio, 750 g de Muriato de potasio y 375 g de DAP. La segunda fertilización edáfica al 1^{er}, 2^{do} y 3^{er} bloque, 43 días Urea (16% N), 2 sacos/ha. El cuarto bloque, se utilizó el abono completo Fertiarroz 20-0-19-2-2 (N-K-Mg-S), 6 sacos/ha (Figura 3). A los 37 días después de trasplante se procedió a la aplicación de un abono foliar DISS ZEUS con dosis 1,5 mL/L de agua con bomba de mochila se asperjó en los cuatro bloques establecidos.

Figura 3. Fertilización de los lotes (A v B).



El control de malezas se realizó de forma manual, erradicando cualquier tipo de malezas y el arroz voluntario que emergían dentro de cada bloque de cruzamiento, durante la conducción del experimento (Figura 4).

Figura 4. Control de malezas: erradicación de malezas dentro de los bloques de cruzamientos (A); cultivo de progenitores libre de malezas (B).



Debido a la presencia de insectos defoliadores, se aplicó a los 16 días después de la siembra, se aplicó insecticida (Alpha-Cypermethrin 100.0 g/L) en dosis de 75 mL/ha al primer y segundo bloque de cruzamiento. Por prevención al desarrollo del cultivo, se aplicó fungicida (Azoxystrobin 250 g/L tebuconazole 200) en dosis de 750 mL/ha. En los bloques se utilizaron 75 mL en 20 litros de agua.

Debido a la presencia de ataque de *Hydrellia griseola*, entre 22 y 30 días después de la siembra, se aplicó (Fipronil 200 g/L) en dosis 250 mL/ha. A los 37 días después de la siembra se utilizó (Alpha-Cypermethrin 100 g/L) en dosis de 75 mL/ha.

Cuando los individuos de los genotipos sembrados comenzaron a florecer, se procedió a realizar las siguientes actividades:

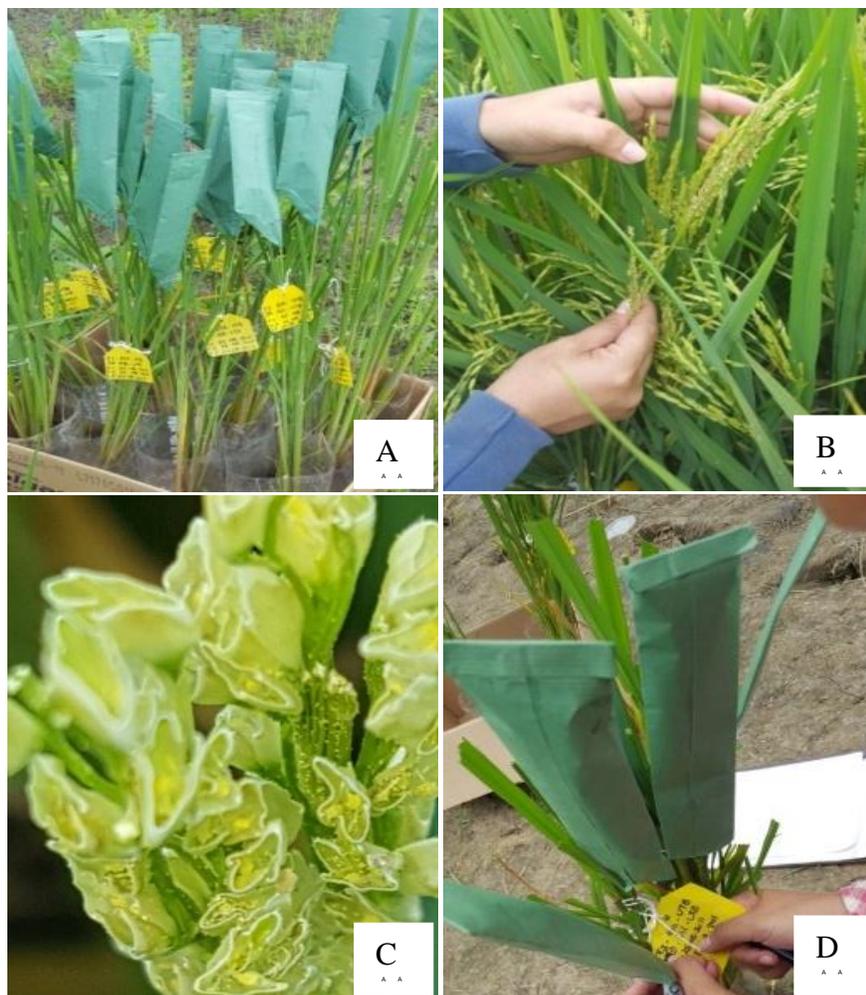
La selección las macollas que formaron de progenitor femenino, se consideró que estén en condiciones fitosanitarias óptimas y cuando la inflorescencia haya emergido entre 50 a 60 % fuera de la vaina, sin que estén las panículas en el estado de antesis. En horas de la mañana, se procedió a extraer las macollas de raíz, cortando alrededor de la base la planta con la punta de un machete pequeño, procurando dañar lo menos posible el sistema radicular, tomando la planta con sustrato de suelo, e inmediatamente se eliminaron las hojas a excepción de la hoja bandera, luego se ubicaron en un balde con agua para evitar la deshidratación. Se colectaron varias macollas por variedad. Se identificó con etiquetas, con el nombre del genotipo y fecha de colecta (Figura 5).

Figura 5. Selección de la planta como progenitor femenino. Colección de macollas: selección y extracción de macollas de condiciones fitosanitarias óptimas (A); e identificación con etiquetas, nombre del genotipo v fecha de colección: colocadas en un balde con agua (B).



La emasculación consistió en eliminar las anteras que contenían cada flor. Se eliminaron las flores ya abiertas en el tercio superior de la panícula y aquellas inmaduras del tercio inferior, utilizándose solo las florecillas de la parte central de cada panícula. Con una tijera pequeña, se realizó un corte transversal a mitad de cada flor seleccionada (Figura 6, A). Después, con una punta fina de plástico conectada a una manguera fina y esta a su vez conectada a bomba al vacío (ST2-Stage Vacuum Pump, Model: Sp4, Power:1/3Hp) (Figura 6, B), se succionaron las seis anteras que contenían las florecillas. Seguido, se realizó el chequeo de cada florecilla, a trasluz utilizando luz led blanca en la parte posterior de la flor emasculada, para observar que no quedaran residuos de anteras en el interior de esta (Figura 6, C). Subsiguientemente, las panículas femeninas fueron cubiertas con un sobre de papel para evitar el contacto con polen extraño (Figura 6, D), manteniéndose en un recipiente con agua por un lapso de 48 horas antes de la polinización.

Figura 6. Emasculación de las macollas: corte transversal de las florecillas para emascular (A); succión de antera con una punta de pipeta conectada a una manguera fina y esta a su vez a la bomba al vacío (B); chequeo de residuos de anteras a tras luz led blanca por la parte posterior de la flor emascularada (C); macollos cubiertas con sobre de papel para evitar contaminación de polen extraño (D).



La polinización se realizó en horas próximas del medio día, cuando se liberó el polen (antesis), de las plantas utilizadas como genotipo masculino. Las panículas emascularadas (genotipo femenino), fueron trasladadas al campo (bloques de hibridación), para ser polinizadas. Para esta labor, se retiró el sobre de papel y se agitaron las panículas con polen de los genotipos masculinos sobre el estigma de las flores emascularadas. Posteriormente, las panículas conteniendo las flores femeninas polinizadas, se volvieron a cubrir con los sobres de papel, identificando con fecha de polinización y nombre de genotipo masculino con el que se cruzó (Figura 7).

Figura 7. Polinización de las panículas emasculadas trasladadas a los bloques de parentales (A); polinización cruzada, panículas femeninas con polen de genotipos masculinos al momento de la antesis (B); polen dentro de cada florecilla (C); Protección con el sobre de papel de las inflorescencias polinizadas (D).



Las plantas polinizadas fueron llevadas a un galpón (bajo sombra) para permitir el desarrollo de los embriones fecundados. A partir de los 6 días, se retiró el sobre protector de papel, después de un lapso de 12 días se expusieron a la luz directa. Pasando un día se les cambio el agua de los recipientes que contenía las macollas, hasta llegar a la cosecha (Figura 8).

Figura 8. Manejo de las plantas polinizadas: mantenimiento de las plantas polinizadas, a los 6 días se les retiró el sobre protector de papel (A); plantas 12 días después de la polinización



La cosecha de las semillas F1 se realizó a los 30 días después de la polinización, seleccionando los granos sanos de buen desarrollo, luego se procedió a descascarar teniendo cuidado de no dañar el embrión. Las semillas, provenientes de cada cruce fueron contadas y guardadas en sobres de papel. Posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UTB), para su respectivo secado. El secado se realizó en una estufa a 28° C, por el lapso de 16 horas (de 17:00 pm a 09:00 am). Se debe considerar también que, al momento de salir los granos de la estufa, se encontraron granos muy secos, quebrados y afectados por insectos los mismos que fueron desechados. Posterior al secado, se almacenaron en un refrigerador a 13° C (Figura 9).

Para el tratamiento y prevención de la semilla F1 contra ataques de insectos plaga, se realizó el tratamiento, con insecticida agrícola en tableta, gastoxin (Aluminum Phosphide 570 g/kg). Para esto se utilizó un balde, el cubriendo la tapa completamente con plástico para evitar salida de la sustancia gaseosa que produce el gastoxin, en dosis de una tableta por balde. Las semillas permanecieron durante cinco días en el tratamiento mencionado.

Variables evaluadas

Se evaluó el número de flores emasculadas (polinizadas) a los seis días después se retiraba el sobre que cubría las plantas polinizadas, se contabilizaron el número total de flores emasculadas y/o polinizadas.

El número de flores fecundadas a los 12 días, se evaluó esta variable en cada uno de los cruces. Para esto se observaba la presencia de los embriones en el interior de la florecilla o algunos que se encontraban ya sobresaliendo la florecilla.

El número de flores no fecundadas se evaluó a los 12 días, el número total de flores no fecundados, en cada uno de los cruces. El porcentaje de flores fecundadas se estimó considerando el número total de florecillas polinizadas con el número de granos fecundados.

Para el número de semillas cosechadas se determinó momento de la madurez fisiológica de la semilla F1, se contabilizaron las semillas cosechadas por espiga. El porcentaje de semillas cosechadas se calculó se considerando dos variables como se muestra en la siguiente formula: $\text{Semillas fecundadas} / \text{semillas cosechadas} * 100$.

RESULTADOS

El número de flores emasculadas (polinizadas) los 14 parentales utilizados en cruces recíprocos, se obtuvieron un total 178 cruces de los 182 planificados. Como resultado, se emascularon un total de 81 147 flores (Tabla 1). En la Figura 9, se muestra la polinización y conteo de las flores emasculadas.

Tabla 1. Estadígrafos de las variables evaluadas en este estudio.

Estadígrafos	Flores Emasculadas	Flores Fecundadas	Flores No Fecundadas	Flores Fecundadas (%)	Semillas Cosechadas	Semillas Cosechadas (%)
Total	81147	28497	52669	65	20236	25
Media	456	160	296	36.5	114	67.5
Mediana	427	141	261	34.8	94	72.6
Moda	248	82	154	40.0	121	50.0
Varianza	65355	9992	34602	262.8	7859	595.3
Desviación estándar	256	100	186	16.2	89	24.4
Error típico	19	7	13.9	1.2	6.6	1.8
Curtosis	0.9	0.4	1.1	0.5	0.7	-0.5
Coefficiente de asimetría	1.0	0.9	1.0	0.7	1.1	-0.7
Variación relativa (%)	4.2	4.7	4.7	3.3	5.8	2.7
Máximo	1348	449	951.0	83.7	431.0	100.0
Mínimo	35	2	20.0	3.3	0.0	0.0
Rango	1313	447	931.0	80.4	431.0	100.0
Tamaño de muestra (n)	178	178	178	178	178	178

Figura 9. Conteo de números de flores emasculadas (polinizadas): flores polinizadas de los individuos cruces parentales masculinos (A) y (B).



El número de flores fecundadas se encontró que, en los 178 cruces realizados, hubo un total de 28 497 flores fecundadas (Tabla 1). En la Figura 10, se muestra las flores fecundadas formadas en las espigas, 12 días después de la polinización.

Figura 10. Números de flores fecundadas: plantas polinizadas cubiertas con fundas de papel para su protección con polen extraño (A); semillas en desarrollo parcialmente expuestas por sus glumas cortadas (B y C).



El número de flores no fecundadas observó que 52 669 flores no fueron fecundadas resultado que se determinó en los 178 cruces realizados como se muestran en la Tabla 1.

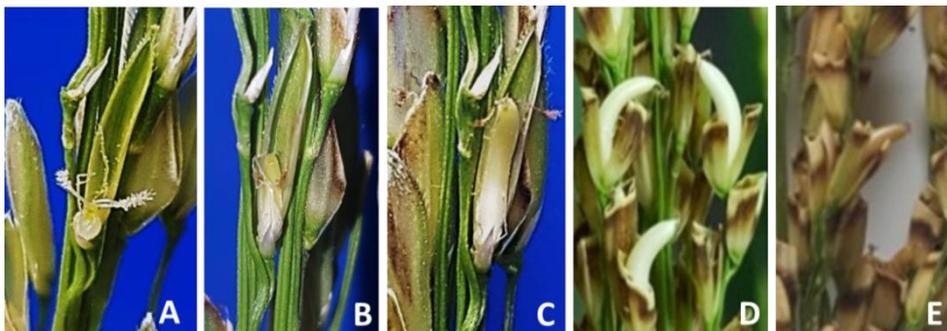
Las flores fecundadas (%) obtuvo un valor de 65%. El número de semillas cosechadas resultó en un valor de 20 236 (Tabla 1). En la Figura 11, se observan las semillas cosechadas F1.

Figura 11. Muestra de semillas cosechadas con y sin glumas (A y B).



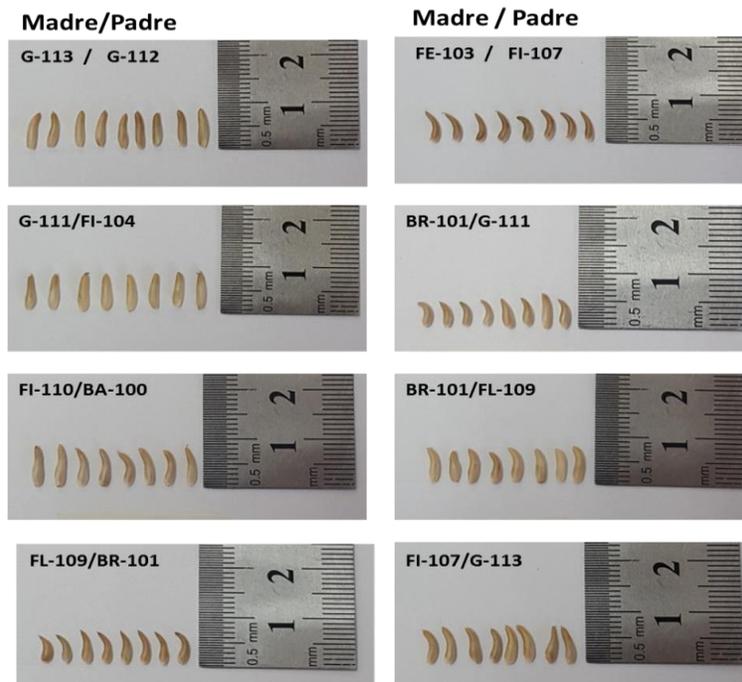
En la Figura 12, se aprecia el desarrollo de óvulo a semilla, desde el momento de la polinización, 4, 6, 15 y 30 días de edad.

Figura 12. Formación de los granos polinizados de arroz. Óvulo antes de la polinización (A). Embrión en formación 4 días después de la polinización. Embrión de 6 días de formación (C), embriones de 15 días de formación (D) y semilla de 30 días fisiológicamente madura lista para la cosecha (E).



En la Figura 13, se observa los aspectos de longitud, ancho y forma de la semilla F1, cosechada a partir de los diferentes cruces empleados en esta investigación. Nótese que ciertos cruces poseen más vigor que otros.

Figura 13. Semillas F1 cosechadas a partir de los cruces.



Las semillas cosechadas (%), muestran promedios que variaron desde el 11.4% (CA-102UTB x SH-108-UTB), hasta el 100% (FL-110-UTB x SH-108-UTB, FI-105-UTB x FE-103-UTB y G-112-UTB x SH-108-UTB), como se observa en el Tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de semillas cosechas obtenido a partir de los cruces recíprocos entre 14 cultivares de arroz.

Parentales ♀ ♂	BA-100-UTB	BR-101-UTB	CA-102-UTB	FE-103-UTB	FI-104-UTB	FI-105-UTB	FI-106-UTB	FI-107-UTB	FL-109-UTB	FL-110-UTB	G-111-UTB	G-112-UTB	G-113-UTB	SH-108-UTB	Semillas Cosechadas (%)
BA-100-UTB		40.5	39.4	56.7	57.6	45.2	52.9	46.0	46.7	40.6	29.1	65.5	31.4	50.0	46.3
BR-101-UTB	74.7		97.5	79.3	63.2	97.8	91.2	39.4	96.9	87.1	89.2	96.5	100.0	33.9	80.5
CA-102-UTB	37.0	59.6		81.3	79.4	96.2	67.7	70.8	76.2	75.6	68.2	33.8	72.4	11.4	63.8
FE-103-UTB	98.3	91.4	81.1		88.2	82.3	91.5	90.5	79.3	72.5	88.5	91.7	78.1	70.0	84.9
FI-104-UTB	80.0	19.3	29.4	96.2		39.0	26.3	-	0.0	25.5	13.1	41.1	16.3	51.5	36.5
FI-105-UTB	20.8	53.2	26.9	100.0	45.1		53.3	20.7	59.3	38.5	65.8	49.7	19.2	32.0	45.0
FI-106-UTB	36.2	74.2	86.4	41.9	57.3	25.1		13.9	78.1	96.3	65.4	81.4	23.9	72.6	57.9
FI-107-UTB	88.1	97.5	63.6	87.9	-	11.1	91.3		95.2	80.9	71.6	94.5	85.4	70.9	78.2
FL-109-UTB	34.4	60.1	92.3	64.6	40.3	57.5	48.2	50.0		55.8	68.4	77.2	47.5	90.5	60.5
FL-110-UTB	90.8	54.0	86.0	86.6	94.3	92.2	76.0	95.3	74.0		80.9	87.9	77.8	64.9	81.6
G-111-UTB	20.0	91.0	94.4	97.9	46.5	88.9	97.4	89.3	79.8	86.2		65.9	56.8	64.9	75.3
G-112-UTB	68.1	60.6	85.2	80.0	59.7	73.2	60.2	96.0	70.2	57.0	97.8		-	100.0	75.7
G-113-UTB	83.8	98.3	96.6	79.8	53.0	-	71.3	69.2	64.6	89.4	76.8	80.2		80.9	78.7
SH-108-UTB	86.3	56.8	98.0	91.3	88.6	91.0	81.6	96.2	88.9	50.0	88.8	59.3	73.2		80.8
Semillas Cosechadas (%)	63.0	65.9	75.1	80.3	64.5	66.6	69.9	64.8	69.9	65.8	69.5	71.1	56.8	61.0	67.5

En lo referente al resultado de las correlaciones lineales entre las variables obtenidas en los progenitores (Tabla 3), se encontró una correlación lineal creciente altamente correlacionada. Es el caso de la correlación entre la variable flores emasculadas con la variable flores fecundadas, que obtuvo un valor de 0.797. La misma tendencia tuvieron las flores emasculadas con las flores no fecundadas logrando un valor de 0.946. Las flores emasculadas también se correlacionaron con las semillas cosechadas, presentando un valor de 0,723. Igualmente, se aprecia que las flores fecundadas con las semillas cosechadas estuvieron altamente correlacionadas, estableciendo un valor de 0.918.

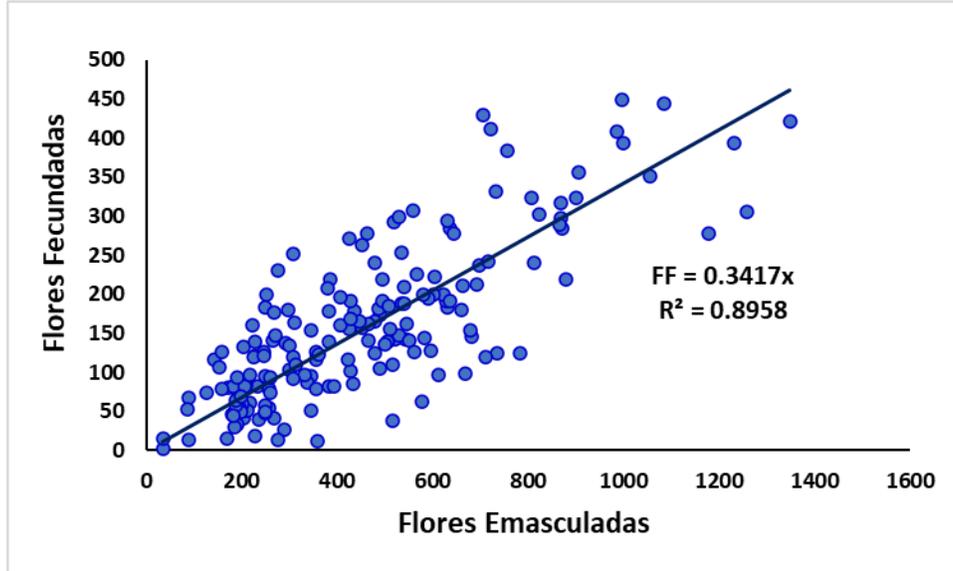
Tabla 3. Resultados del análisis de correlaciones lineales Momento producto de Pearson (r) entre las variables.

Variables	Flores Emasculadas	Flores Fecundadas	Flores No Fecundadas	Flores Fecundadas (%)	Semillas Cosechadas	Semillas Cosechadas (%)
Flores Emasculadas	1					
Flores Fecundadas	0.797	1				
Flores No Fecundadas	0.946	0.558	1			
Flores Fecundadas (%)	-0.156	0.386	-0.422	1		
Semillas Cosechadas	0.723	0.918	0.500	0.346	1	
Semillas Cosechadas (%)	0.168	0.229	0.107	0.082	0.529	1
<hr/>						
	$r_{0,05} =$	0.147				

El coeficiente de Regresión y Coeficiente de Determinación de flores fecundadas y semillas cosechadas vs flores emasculadas con respecto a la evaluación del número de flores fecundadas, de acuerdo con el coeficiente de regresión $b = 0.3417$, se deduce que por cada 100 flores emasculadas se logran 34 flores fecundadas (Figura 14).

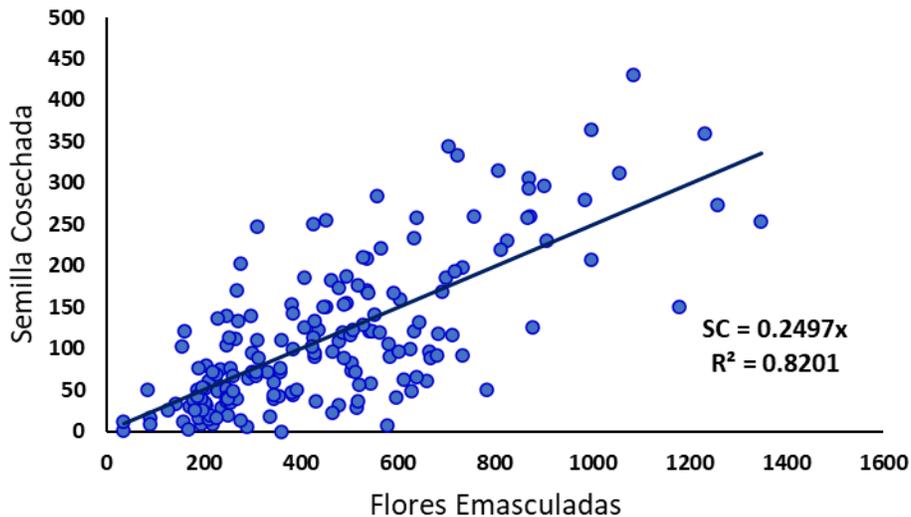
El coeficiente de determinación $R^2 = 89.58\%$ significa que el porcentaje de flores fecundadas es explicado por la emasculación en un 90 % aproximadamente y el 10 % restante depende de otros factores, que pueden ser ambientales y la experticia del personal al momento de realizar en el proceso de polinización.

Figura 14. Correlación entre las variables flores emasculadas y flores



Así mismo, con relación a la evaluación del número de semillas cosechadas, los resultados indicaron que con el coeficiente de regresión $b = 0.2497$, se deduce que por cada 100 flores emasculadas se cosecharon 25 semillas (Figura 15).

Figura 15. Correlación entre las variables Flores emasculadas v semillas



Una vez realizada la prueba de *t student*, la respuesta encontrada en cada uno de los parentales se observa en la Tabla 4. Se observa que 13 de los 14 genotipos presentaron alta significación estadística (**) en la Conversión (%) de Flores emasculadas a semillas cosechadas, >25%.

Tabla 4. Conversión (%) de Flores emasculadas a semillas cosechadas, Nivel crítico, t calculada t 0.05 t 0.01 y significación estadística de 14 parentales de arroz.

Parentales	Conversión (%) de Flores emasculadas a semillas cosechadas	Nivel crítico de Conversión (%)	t calculada	Significancia estadística
BA-100-UTB	46	25	7.38	**
BR-101-UTB	81	25	9.01	**
CA-102-UTB	64	25	6.05	**
FE-103-UTB	85	25	25.76	**
FI-104-UTB	40	25	1.82	*
FI-105-UTB	45	25	3.17	**
FI-106-UTB	58	25	4.41	**
FI-107-UTB	74	25	6.49	**
SH-108-UTB	81	25	12.69	**
FL-109-UTB	61	25	7.18	**
FL-110-UTB	82	25	16.75	**
G-111-UTB	75	25	7.76	**
G-112-UTB	76	25	11.07	**
G-113-UTB	79	25	14.29	**

**La t calculada debe ser mayor que los valores de t 0,05 y t 0,01.

*La t calculada debe ser mayor que el valor de t 0,05.

Valores críticos (GL=12): t_{0,05}=1.7613 t_{0,01}=2.6245

La media de conversión de las flores emasculadas a semillas cosechadas de los parental tanto masculinos como femeninos es mayor que el 25% con el 99% de confianza (p <0.01), excepto la línea FI-104-UTB que resultó menor con el 95% de confianza (p <0.05).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se obtuvieron diversas poblaciones de semillas F1 como resultado de los cruzamientos recíprocos entre 14 cultivares utilizados. De acuerdo con lo que mencionan Chatel y Guimaráes (1995), los objetivos del mejoramiento genético en cultivo de arroz son conformar germoplasmas con variabilidad genética contenida en diversos individuos, incrementando progresivamente el valor genético de una o varias características agronómicas de un determinado material y crear la base genética de líneas con altos niveles de expresión de las características elegidas. Sin embargo, en este estudio para asegurar la generación de la variabilidad genética, se repitieron varias polinizaciones en los mismos cruces. Lo realizado concuerda con lo mencionado por Sankarung, Holguín y Llanos (1989), quienes mencionan que cuando se realizan los cruces, es conveniente observar periódicamente el desarrollo de las semillas, con el fin de prever la necesidad de repetir los cruces si el número de semillas resultantes es insuficiente.

En esta investigación, el porcentaje de semillas cosechadas a partir de los cruces recíprocos entre 14 cultivares, los promedios variaron desde el 11.4% (CA-102UTB x SH-108-UTB), hasta el 100% (FL-110-UTB x SH-108-UTB). Estos resultados poseen rangos que se asemejan a lo reportado por García & Carreres (2008) que, en un estudio sobre hibridación en arroz realizado para mejorar los porcentajes de formación de semillas, obtuvieron 31.5% de semillas F1 a partir de emasculación por aspiración de anteras y 16.5% de semillas F1 a partir de emasculación por inmersión de anteras en agua caliente. Jennings, Coffman y Kauffman (1981), mencionan que obtuvieron un número de 31 semillas formadas para caso del cruce P752 y un total de 118 semillas para el cruce P985, aunque estos autores no mencionan el número de flores emasculadas con el que iniciaron el trabajo, estos valores se aproximan a los obtenidos en algunos cruzamientos del presente estudio en la variable de número de semillas formadas. Por otro lado, los autores Aung, Takashi, Tanaka y Tsutomu (2020), con la finalidad de mejorar la polinización del arroz, investigaron el efecto de la inclinación de la panícula sobre la estabilidad de la polinización, estudiando posiciones de 0 a 45°. Determinaron que la inclinación de la panícula afectó significativamente el número de granos de polen totales y germinados en el estigma, mencionando que a medida que aumenta la inclinación de la panícula ($\geq 30^\circ$), podría reducir en gran medida la producción

de granos, porque para su fecundación, el arroz requiere >10 granos de polen germinados en el estigma.

En este estudio se determinó que se debe esperar un 25% de semillas formadas después de la polinización; sin embargo, durante la evaluación de las flores fecundadas realizada a los doce días, donde se notaban las semillas en crecimiento fuera de la florecilla cortada durante el proceso de emasculación y al evaluar, se encontró un valor en promedio de 65% de flores fecundadas, que es 2.6 veces más alto que el valor de las semillas formadas; esto significa entonces que existen otros factores que inciden en el proceso de la formación de la semilla, ya que un porcentaje alto de las semillas fecundadas no sobrevivieron hasta el momento de la cosecha,

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye en lo siguiente:

Se concluye que por cada 100 flores emasculadas se logran obtener un total de 34 flores fecundadas.

Igualmente, por cada 100 flores emasculadas, se han obtenido 25 semillas cosechadas.

La media de conversión de las flores emasculadas a semillas cosechadas de los parentales, tanto masculinos como femeninos, es mayor que el 25% con el 99% de confianza ($p < 0.01$), excepto la línea FI-104-UTB que resultó menor con el 95% de confianza ($p < 0.05$).

Los progenitores de mejor porcentaje de conversión fueron el FL-110-UTB con 82% y el FE-103-UTB que presentó un 85%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aung Win, Takashi ST, Tanaka y Tsutomu M. (2020). La inclinación de la panícula influye en la estabilidad de polinización del arroz (*Oryza sativa* L.), *Plant Production Science*, 23: 1, 60-68, DOI: 10.1080 / 1343943X.2019.1698971

Ávila Castañeda y Cruz García (2011). Sistema de incompatibilidad gametofítico en plantas: una oportunidad para evitar endogamia. Departamento de bioquímica,

- Facultad de Química, UNAM ciudad Universitaria CP 04510, México DF
fcg@unam.mx.
- Berrio Orozco, L. E., Torres Toro, É. A., Barona Valencia, J., Cuásquer Sedano, J. B. (2016). Diversidad genética de las variedades de arroz Flar liberadas entre 2003-2014. *Agron. Mesoam.*, 27(2), 217-231. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43745945001>
- Chatel, M. y Guimaraes, E. P. (1995). Selección recurrente con androesterilidad de arroz. Centre de cooperation Internationale en Recherche Agronomique pour le developpement-departement des cultures annuelles (CIRAD-CA) y Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 70p (Publicación CIAT No. 246).
- Friedmann, A., Weil. (2010). United States Agency for International Development. Obtenido de Arroz negocio creciente:
<http://www.mag.gov.py/usaidd/arrozz%20negocio%20creciente%202010.pdf>.
- García de Yzaguirre A. & Carreres Ortells R. (2008). Efficiency of different hybridization methods in single crosses of rice for pure line breeding. *Spanish journal of agricultural research*, 6(3), 395-400. DOI: 10.5424 / sjar / 2008063-332
- INAMHI. Babahoyo-Los Ríos. Anuario Meteorológico (Quito-Ecuador 2017).
- Jennings, P.R. Coffman W.R. Y Kauffman, H.E. Mejoramiento de arroz. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, 1981, P.
- Quiroz Chávez , J., García Pérez , L., Quiroz Figueroa , F. (2012). Mejoramiento vegetal usando genes con funciones conocidas. *Ra Ximhai*, 8(3b), 79-92. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46125177009>
- Ramírez , A., Días P, L., Zaczuk B, P., Piler C, C. W., Ramírez A, J. L. (2010). Calidad del arroz de tierras altas en función del tiempo de cocción y del cultivar de arroz. *ScienciaAgraria*. Obtenidode <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=99515218010>
- Sankarung, S., Holguín A, G., Llanos , C. (1989). Método modificado de cruzamiento de arroz. Cali, Colombia. Obtenido de https://books.google.com.ec/books/about/Metodo_modificado_de_cruzamiento_de_arro.html?id=3GmMkNG81uoC&redir_esc=y.