

## CALIDAD DEL GRANO Y VARIABILIDAD GENÉTICA DE VARIEDADES Y LÍNEAS DE ARROZ DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS (INIA)<sup>1</sup>

### GRAIN QUALITY OF RICE VARIETIES AND LINES FROM THE NATIONAL INSTITUTE FOR AGRICULTURAL RESEARCH (INIA)<sup>1</sup>

Iris Pérez-Almeida\* y María A. Montoya Aramburu\*\*

<sup>1</sup>Trabajo financiado por el subproyecto 2004000369, aprobado por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología (MPPCT) a través del organismo adscrito Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT).

\* Investigadora III. INIA - CENIAP. E-mail: iperez@inia.gob.ve

\*\* Ingeniero Agrónomo. INIA - CENIAP. E-mail: mmontoya@inia.gob.ve

#### RESUMEN

La calidad del grano de arroz, *Oryza sativa* L., considera aspectos molineros, culinarios, de apariencia y nutricionales. En este trabajo se realizó la caracterización morfológica y molecular de 16 materiales de arroz del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), con énfasis en calidad del grano, utilizando marcadores microsatélites (SSR). Los caracteres evaluados incluyeron longitud (L), ancho y espesor del grano, porcentaje de granos enteros (PGE), yesosos (GY), panza blanca (GPB) y el contenido aparente de amilosa. Por asociación de componentes principales se encontró que 3 factores explicaron 75% de la variación total. Los materiales utilizados en este ensayo presentaron grano fino largo, comportamiento intermedio en calidad molinera, mientras que su calidad culinaria, exceptuando 2 variedades de origen italiano, mostró una composición de amilosa mayor de 20%, acorde con lo exigido por el mercado nacional. Para analizar la variabilidad genética se utilizaron 48 microsatélites previamente asociados a caracteres de calidad del grano, encontrando que sólo 20 presentaron bandas polimórficas (porcentaje de loci polimórfico 40%) en estos materiales y detectando 43 alelos, con un número promedio de alelos por marcador de 2,26. A los datos moleculares se les realizó un análisis de correspondencia múltiple encontrando que los 3 primeros factores explicaron 70,6% de la variación total, y por análisis de conglomerados usando la distancia 1-Jaccard y encadenamiento promedio de Ward se obtuvo la formación de 4 grupos. Bajo las condiciones de este estudio no se demostró correlación entre las características cuantitativas de calidad de grano y los patrones alélicos obtenidos por SSR.

**Palabras Clave:** *Oryza sativa* L.; calidad culinaria; calidad molinera; marcadores microsatélites; variabilidad genética.

#### SUMMARY

Grain quality of rice takes into account milling, cooking, nutritional and appearance aspects. This work carried out the morphological and molecular characterization of 16 rice materials, with emphasis on grain quality, using microsatellite markers (SSR). Evaluated characters included length, width and thickness of the grain, percentage of whole grain, percentage of chalky grain, white belly and apparent amylose content. By principal components association we found that three factors explained 75% of the total variation. Materials used in this work showed long-grain, intermediate behavior regarding milling quality, while its cooking quality, except for two varieties of Italian origin, showed an amylose composition higher than 20%, in accordance with domestic market requirements. To analyze the genetic variability we used 48 microsatellites previously associated with characteristics of grain quality, finding that only 20 showed polymorphic bands (percentage of polymorphic loci 40%) in these materials, and detecting 43 alleles, with an average number of alleles per marker of 2.26. Molecular data was evaluated by a multiple correspondence analysis finding out that the first three factors explained 70.6% of the total variance, and by cluster analysis using 1-Jaccard distance and Ward average linkage, we obtained the formation of 4 groups. Under the conditions of this study we could not demonstrate correlation between quantitative characteristics of grain quality and allelic patterns achieved by SSR.

**Key Words:** *Oryza sativa* L.; cooking quality; milling quality; microsatellite markers; genetic variability.

RECIBIDO: febrero 09, 2009

ACEPTADO: julio 20, 2009

## INTRODUCCIÓN

El arroz, *Oryza sativa* L., es cultivado bajo condiciones y sistemas de producción diferentes. Así mismo, los granos tienen diversas características en relación al tamaño, consistencia al cocinar, cualidades aromáticas y color de grano, desde castaño, rojo, púrpura, negro hasta el blanco tradicional (GRAMENE, 2007).

Los programas de investigación y mejoramiento del arroz no sólo deben incluir las evaluaciones tradicionales enfocadas a los componentes de rendimiento y caracteres morfológicos, es necesario tomar en cuenta la calidad para satisfacer los gustos del consumidor (Ilarraza, 2002), ya que el arroz es el único cereal que se consume como tal, sin más procesamiento que descascarado y pulido. La integridad del grano durante ese proceso determina la denominada calidad industrial; su comportamiento durante y después de la cocción caracteriza su calidad culinaria. La primera es universal y tiene su normalización, la segunda es absolutamente dependiente de los hábitos culturales (Livore, 2004).

En general, la calidad de un producto se define por el conjunto de atributos que lo caracterizan y que determinan el grado de aceptación del comprador. Esta definición refleja que es el usuario el que interpreta la mayor o menor calidad de un producto en función de sus características particulares, las preferencias del colectivo al que se dirija o el uso al que se destine. En el caso del arroz el control de calidad en el mercado debe empezar con la selección de las variedades a cultivar, que junto con un manejo cuidadoso, asegurarán una buena calidad del producto final. Por ello, es necesario conocer cuáles son las características de una variedad en aquellos atributos que caracterizan su calidad (León y Carreres, 2002).

Los determinantes de la calidad y apariencia del grano, de arroz incluyen caracteres tales como: el rendimiento en grano entero (GE), el porcentaje de granos yesosos (GY) y con centro blanco (CB), la longitud (L), el grosor y la forma del grano (estimada como relación entre L y grosor del grano) según estudios realizados por Lanceras *et al.* (2000); Yan *et al.* (2003). En la apariencia del grano pulido (GP) participan decisivamente las dimensiones y forma del grano, las características de perlado y su blancura. La forma y tamaño del grano son características varietales que influyen en muchas fases del proceso, manejo y comercialización.

La medida de la L y la relación longitud-anchura (LA) del GP son base para la clasificación del tipo de grano (León y Carreres, 2002). Existen 4 tipos de GP (Livore, 2004) de acuerdo con sus dimensiones: el grano largo fino con L mayor a 6 mm y un ancho (A) menor a 2 mm; el grano largo ancho con L mayor de 6 mm y A mayor de 3 mm; el grano mediano posee un L entre 5-6 mm y un ancho entre 2,5-3 mm; el grano corto es aquel que posee L menor de 5 mm y un A mayor de 2,5 mm también llamado grano redondo (Livore, 2004).

Las dimensiones del grano son atributos muy condicionados por la genética de la variedad, con escasa o nula influencia de las condiciones que acontecen durante su desarrollo, lo que reafirma su importancia como criterios de calidad (León y Carreres, 2002).

En sus trabajos, Martínez *et al.* (2002) indican que el tamaño del grano es altamente heredable en la mayoría de los ambientes, características que se fijan excepcionalmente temprano en las generaciones segregantes, la forma y la L se heredan de forma cuantitativa.

Otro carácter de importancia es el color del grano, que viene dado por la capa más externa de la carióspside, suele variar desde amarillo claro a negro. El color negro es generalmente un defecto, con excepción de algunos arroces de pericarpio rojo utilizados en la gastronomía europea (Chaudhary y Tran, 2001).

Algunos estudios señalan que es un carácter de herencia compleja y baja heredabilidad, con segregación transgresiva, interacciones epistáticas, posibles efectos maternos y dominancia (Tan *et al.*, 2001). El color perlado es otra característica de importancia en lo que a calidad se refiere y se entiende como las zonas opacas del grano que pierden su cristalinidad por un mal empaquetamiento de los componentes celulares del endospermo (León y Carreres, 2002), como gránulos de almidón y proteína. Esto hace que el grano sea más frágil y se rompa con más facilidad que el grano cristalino con gránulos poliédricos y empaquetados apretados (Webb, 1991). Esta característica se conoce en Venezuela como grano panza blanca (GPB) y determina junto con otros factores la calidad molinera, debido a que en las exigencias del mercado de grano largo y fino la presencia de este tipo de grano es un detrimento de la calidad (Livore, 2004).

La aceptabilidad de un grano cristalino o perlado depende de cada país y generalmente los países que consumen el arroz tipo indica prefieren un endospermo libre de perla y claramente traslúcido, mientras que en

países como Italia y España la característica de perla es apreciada por el consumidor y existen variedades especialmente diseñadas para tener un gran centro blanco. Esta característica también es muy apreciada por los japoneses pues son destinadas a la elaboración de "sake", bebida fermentada alcohólica a base de arroz (Yoshida *et al.*, 2002). Constituye una clara demostración de la relatividad del término "calidad" que obliga a mencionar la referencia del mercado destino cuando se habla de ella.

Similares al GPB se observa el GY, que se diferencia porque el color blanco opaco es uniforme en todo el grano, pero su origen es diferente al de los anteriores. Generalmente, la aparición de un alto porcentaje de estos granos está asociada a heterogeneidad en el cultivo (diferentes grados de madurez), humedad de cosecha excesivamente alta o condiciones climáticas anormales como las bajas temperaturas durante la madurez. La condición de yesoso se presenta en granos inmaduros debido a una falta de sincronía en la aparición de macollos. La cosecha se decide en función de la madurez de la mayor parte del lote y en cultivos que sufrieron problemas climáticos o de manejo, se suele encontrar una alta heterogeneidad en el estado fisiológico de las plantas y dentro de ellas en los diferentes macollos (Livore, 2004).

El perlado, ya sea central, dorsal u ocupando todo el grano se determina por inspección visual directa sobre los granos descascarillados, lo cual lleva una gran cantidad de tiempo. La elección de marcadores moleculares (MM) adecuados a cada población podría contribuir al proceso de selección (León y Carreres, 2002).

Con respecto al centro blanco, Martínez *et al.* (2002) señalan que es un carácter multigénico, con interacción ambiental, la cual afecta parcialmente su expresión y los granos de una misma panícula pueden diferir en opacidad.

Como se mencionó anteriormente, entre los atributos de la calidad está el carácter culinario o comportamiento esperado del arroz al ser cocinado (Livore, 2004). El endospermo del grano de arroz está formado en mayor proporción por almidón y éste a su vez posee amilosa y amilopectinas. El equilibrio entre ambas o la alteración que pueden sufrir los componentes del grano durante su formación es lo que va a determinar su calidad culinaria (Páez, 2004).

La amilosa es la fracción de almidón de los cereales de función estructural constituida por una red lineal de

unidades de glucosa unidas mediante enlaces  $\alpha$  (1  $\rightarrow$ 4) y el porcentaje de amilosa permite determinar indirectamente la calidad culinaria de arroz (CIAT, 1989). Basados en el contenido de amilosa el arroz se clasifica en 5 grupos: waxy con el 0-5%, muy bajo (5,1-12,0%), bajo (12,1-20%), intermedio (20,1-25%) y alto (> 25%). Las variedades con muy bajo contenido de amilosa son glutinosas o waxy, que dan granos húmedos y pegajosos cuando están cocidos; los de altos contenidos de amilosa son duros y sueltos al estar cocidos (Juliano y Villareal, 1993).

En Venezuela se consume arroz con un contenido intermedio de amilosa, por lo tanto el bajo contenido consiste en un arroz de baja calidad, al igual que si presenta una consistencia dura del gel, baja temperatura de gelatinización y un endosperma con centro blanco de apariencia harinosa.

La mejora simultánea de los caracteres de contenido de amilosa, consistencia y temperatura de gelatinización, así como opacidad, han indicado que la región waxy tiene efectos importantes en estas características (Wang *et al.*, 1995; Hirano y Sano, 2000; Bao *et al.*, 2002; Yamanaka *et al.*, 2004).

En un estudio de trece variedades venezolanas, Montoya *et al.* (2007) concluyeron que los parámetros cuantitativos relacionados con calidad molinera, aspecto del grano y componentes del rendimiento fueron las características morfológicas que permitieron una mejor caracterización de las mismas.

Bajo las condiciones de este estudio se encontró que no hubo diferencias significativas entre el rendimiento de las variedades, sólo el 38,46% presentaron valores inferiores al 17% de GY más GPB, en rendimiento de grano entero el 61,54% de los materiales fue menor del 47% y más del 96% de las variedades presentaron valores intermedios de contenido de amilosa.

La utilización de MM asociados a características agronómicas deseables, incluidas las de resistencia es una herramienta relativamente reciente desde el punto de vista tecnológico para aportar información valiosa a los diferentes programas de mejoramiento varietal.

El estudio previo del genoma del arroz y su secuencia a disposición de los investigadores, permite asociar microsátélites con algunas características cuantitativas, por lo tanto, basándose en estudios previos se seleccionan los iniciadores para estudiar la variabilidad respecto a la característica calidad culinaria de los culti-

vares del país. Recientemente Acevedo *et al.* (2007) observaron que la base genética del arroz en Venezuela es más estrecha que la del arroz en América Latina y similar a la del arroz de riego en Brasil. Señalan también, la conveniencia de incrementar la base genética del cultivo disponible para el mejoramiento del mismo, ya que permitiría lograr a corto o mediano plazo mayores ganancias por selección, además de evitar posible vulnerabilidad de ésta.

Diversas técnicas de biología molecular se encuentran disponibles para detectar variabilidad en la secuencia de ADN. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las enzimas de restricción, la separación electroforética de los fragmentos de ADN, las sondas marcadas y las hibridaciones son algunas de las técnicas que permiten obtener un número virtualmente ilimitado de MM y cubrir la totalidad del genoma de un organismo (Picca *et al.*, 2004).

En la literatura, se encuentra información acerca de SSR potencialmente asociados a características que definen la calidad del grano tanto desde el punto de vista molinero como culinario, así como el rendimiento, entre estos se citan: peso del grano (Singh *et al.*, 1996; Lu *et al.*, 1997; Temnykh *et al.*, 2000; Cheng *et al.*, 2001; Zhuang *et al.*, 2002; Thomson *et al.*, 2003; Aluko *et al.*, 2004); tamaño de grano (Singh *et al.*, 1996; Temnykh *et al.*, 2000, 2001; Cheng *et al.*, 2001); porcentaje de granos coloreados (Septiningsih *et al.*, 2003); color de grano, número de granos (Singh *et al.*, 1996; Lu *et al.*, 1997; Tan *et al.*, 1999, 2000; Temnykh *et al.*, 2000, 2001; Cheng *et al.*, 2001); llenado de grano (Singh *et al.*, 1996; Temnykh *et al.*, 2000, 2001; Cheng *et al.*, 2001; Gu *et al.*, 2004); porcentaje de grano entero (Jiang *et al.*, 2005); porcentaje de granos partidos (Jiang *et al.*, 2005); días a maduración (Septiningsih *et al.*, 2003); fertilidad (Li *et al.*, 2001); espesor del grano (Jiang *et al.*, 2005); contenido de amilosa (Temnykh *et al.*, 2000, 2001; Cheng *et al.*, 2001; Aluko *et al.*, 2004; Gu *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 1996; Cheng *et al.*, 2001; Septiningsih *et al.*, 2003; Zhuang *et al.*, 2002); digestión alcalina (Aluko *et al.*, 2004); temperatura de gelatinización (Lanceras *et al.*, 2000).

La identificación de MM microsatélites que permitan la selección temprana (mucho antes de que el grano se desarrolle) de materiales genéticos de arroz con calidad culinaria intermedia a alta por su contenido de amilosa permitirá eliminar aquellos que no posean caracteres

apropiados, permitiendo a los mejoradores un mejor uso de los recursos de investigación cada vez más escasos para el examen extenso sea más promisorios. Otros MM identificados para caracteres de interés agronómico como resistencia a plagas y enfermedades pueden emplearse simultáneamente para incrementar la eficiencia y efectividad de los programas de mejoramiento genético.

En este contexto, se estudió la variabilidad de los cultivares nacionales mediante la técnica de MM. Con el objeto de estudiar la variabilidad genética del arroz venezolano con respecto a los caracteres de calidad, se analizaron molecularmente 16 variedades comerciales con marcadores microsatélites señalados previamente por su asociación a las características de interés y se estudió la diversidad mediante un análisis de conglomerados.

También se estudió su expresión medio ambiental medida por los parámetros L, ancho y espesor del grano (EG); porcentaje de grano entero (PGE), GY y GPB, incluyendo la calidad culinaria medida por el porcentaje de amilosa aparente del grano pulido.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal:** se utilizaron 16 materiales (Cuadro 1) constituidos por las principales variedades de arroz de Venezuela y algunas líneas élites del programa de mejoramiento del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) y como materiales contrastantes se emplearon 2 variedades de viveros italianos, cuyas características de calidad culinaria son diferentes a aquellas exigidas de las mismas nacionales por el mercado.

**Ensayo experimental:** constó de 2 fases. La fase I consistió en el análisis de dimensiones del grano (L, ancho y EG paddy), análisis de calidad molinera (PGE, GY y GPB sobre arroz pulido, AP) y un análisis final de calidad culinaria (porcentaje aparente de cantidad de amilosa) realizado en los 16 materiales objeto de este estudio, los cuales fueron sembrados en campo bajo un diseño de bloques al azar en la estación experimental de INIA- Portuguesa, con 2 repeticiones en febrero de 2005.

Para estimar las dimensiones del grano se tomaron al azar 40 granos paddy de cada material y se midieron en milímetros con la ayuda de un vernier electrónico.

**CUADRO 1.** Identificación de las variedades y líneas élites de arroz utilizados en esta investigación.

N°	Denominación del Cultivar	Tipo	Obtendor
1	CIMARRÓN	Variedad	INIA
2	VENEZUELA-21	Variedad	INIA-FUNNDARROZ
3	FUNNDARROZ PN1	Variedad	INIA-FUNNDARROZ
4	CENTAURO	Variedad	INIA-FUNNDARROZ
5	PALMAR	Variedad	INIA
6	FONAIAP-1	Variedad	INIA
7	FONAIAP-2000	Variedad	INIA
8	ARAURE-1	Variedad	INIA
9	ARAURE-4	Variedad	INIA
10	ARAURE-50	Variedad	INIA-FUNNDARROZ
11	VI/04	Variedad	IIT
12	VI/21-4	Variedad	IIT
13	PN00A007	Línea élite	INIA-FUNNDARROZ
14	PN00A017	Línea élite	INIA-FUNNDARROZ
15	PN01A013	Línea élite	INIA-FUNNDARROZ
16	PN00A002A	Línea élite	INIA-FUNNDARROZ

INIA, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (anteriormente Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias - FONAIAP); FUNNDARROZ, Fundación Nacional del Arroz; IIT, Introducción italiana.

Para determinar la calidad molinera de los materiales se realizó un análisis sobre 200 g de arroz paddy, el cual se descascarilló y pulió. Por un método simple de separación se obtuvo el PGE, sobre los que se realizó el conteo de granos con CB y GY.

Para determinar el contenido de amilosa se utilizó el método clásico de colorimetría propuesto por CIAT (1989), el cual fue realizado en el Laboratorio de Calidad de Grano de la Fundación Danac (San Javier, estado Yaracuy). Este método consistió en tomar una muestra de granos cosechados en campo con una humedad de cosecha entre 20 y 23%, la cual fue limpiada, descascarada, pulida y molida. Después de su tinción con yodo se realizó la lectura en un espectrofotómetro.

La fase II consistió en el análisis del ADN mediante MM tipo microsatélites (SSR) el cual fue realizado en la Unidad de Biotecnología de INIA-CENIAP (Maracay, estado Aragua).

Se utilizó un total de 48 marcadores asociados a la calidad del arroz (Cuadro 2) y distribuidos por los diferentes cromosomas del genoma de este cultivo.

### Análisis del ADN de los materiales mediante microsatélites

Se germinaron 10 semillas de cada material genético bajo estudio en cápsulas de Petri con papel absorbente húmedo durante 10 d. Luego se procedió a tomar 0,4 g de tejido foliar fresco y se maceró con nitrógeno líquido. La extracción de ADN se realizó con el kit de purificación de ADN de Wizard Genomic®. El ADN se dejó suspendido en TE durante 3 d, realizando una prueba de calidad de ADN obtenido.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) constó de 5 µl de ADN a una concentración de 4 ng µl<sup>-1</sup>, 3 µl de buffer 5X, 1,5 µl de cloruro de magnesio a una concentración de 2,5 mM, 2,5 µl de cada par iniciador a una concentración de 2,5 mM, 0,25 µl de dNTP's a una concentración de 2,5 mM, 1 U de Taq polimerasa y 3,10 µl de agua bidestilada esterilizada para un volumen final de reacción de 15 µl.

El termociclador se programó según la temperatura de hibridación de los iniciadores, en este caso 55° C, y el ciclo consistió en una desnaturalización inicial de ADN de 3 min a 94° C, seguido de 30 s a 94° C, luego 45 s a 55° C y 1 min a 72° C; el ciclo, exceptuando la desnaturalización inicial, se repitió 29 veces y cerró a 72° C por 5 min para una extensión final del ADN.

La corrida de los productos de PCR se realizó en geles de agarosa al 2,5% en cámaras electroforéticas horizontales. Se colocaron 7 µl de producto PCR en cada fosa del gel y se comparó con un marcador 25 pares de bases (pb), el cual es un patrón de referencia para observar el peso del alelo.

Los geles se corrieron durante 3 h a 100 V. Luego, se fotografiaron para el análisis de bandas en un digitalizador de imágenes marca BIORAD modelo CHEMIDOC, utilizando el programa Quantity one v. 4.2®.

### Análisis estadístico

Utilizando los valores promedios obtenidos de los 7 caracteres de calidad analizados (L de grano, ancho de grano, EG, PGE, porcentaje de GPB, porcentaje de GY y contenido aparente de amilosa) de los 16 materiales bajo estudio se realizó un análisis de componentes

principales para verificar la calidad de los datos, seguidamente se realizó un análisis de conglomerados por encadenamiento promedio Ward con distancia euclídea promedio.

Para el análisis de los datos moleculares se registró la presencia o ausencia de bandas para cada SSR, se obtuvo el número de alelos promedio y porcentaje de loci polimórficos, se verificaron los datos mediante un análisis de correspondencia múltiple y de esta forma se comprobó la calidad de los datos de origen. Seguidamente, se realizó un análisis de conglomerados mediante el método Ward, con una distancia de 1-Jaccard y de esta forma analizar el patrón de asociación en función a los marcadores polimórficos.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el InfoStat ® versión 1.1, Universidad de Córdoba (2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de calidad dimensiones del grano, calidad molinera y culinaria

Con respecto a las dimensiones del grano se encontró que los materiales de vivero italiano están muy cercanos a una longitud (L) superior a 6 mm, a diferencia de las variedades venezolanas que se encuentran entre 8 mm y 10 mm (Cuadro 3).

**CUADRO 2.** Marcadores microsatélites polimórficos en este estudio, cromosoma de ubicación y característica asociada según la revisión de literatura<sup>1</sup>.

SSR	Cromosoma	Característica asociada
RM 220	1	Peso de 1 000 granos (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM1140 <sup>1</sup>	1	–
RM283	1	Peso de 1 000 granos (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM486	1	Contenido de amilosa (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM23	1	Porcentaje de grano partido (Septiningsih <i>et al.</i> , 2003)
RM203	2	Número de granos, peso de 1000 granos (Lu <i>et al.</i> , 1997)
RM208	2	Peso de 1 000 semillas (Zhuang <i>et al.</i> , 2002)
RM279	2	Número de panículas (Aluko <i>et al.</i> , 2004)
RM250	2	Peso de 100 semillas (Thomson <i>et al.</i> , 2003)
RM122	5	Número de granos (Tan <i>et al.</i> , 1999; Xu <i>et al.</i> , 2000)
RM267	5	Consistencia viscosa (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM190	6	Contenido de amilosa y digestión alcalina (Aluko <i>et al.</i> , 2004)
RM253	6	Contenido de amilosa y digestión alcalina (Aluko <i>et al.</i> , 2004)
RM125	7	Peso de 1 000 granos, contenido de amilosa (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM3855 <sup>1</sup>	9	–
RM496	10	Porcentaje de granos partidos (Septiningsih <i>et al.</i> , 2003)
RM144	11	Porcentaje de arroz integral (Aluko <i>et al.</i> , 2004)
RM167	11	Peso de 1 000 semillas (Singh <i>et al.</i> , 1996; Temnykh <i>et al.</i> , 2000, 2001; Cheng <i>et al.</i> , 2001)
RM209	11	Contenido de amilosa (Gu <i>et al.</i> , 2004)
RM270	12	Rendimiento y sus componentes (Septiningsih <i>et al.</i> , 2003)

<sup>1</sup> Para este microsatélite no se encontraron referencias de asociación con alguna característica de rendimiento o calidad de grano en la literatura consultada.

**CUADRO 3.** Calidad molinera, de apariencia y contenido de amilosa aparente determinado por espectrofotometría de los materiales de arroz utilizados.

Material	LG	AG	EG	GE	GY	GP	CA
CIMARRÓN	8,73	2,26	1,87	52,50	4,24	19,08	20,64
VENEZUELA-21	8,80	2,39	1,90	50,00	1,40	17,28	22,22
FUNDARROZ PN1	9,08	2,16	1,83	46,25	0,16	8,84	21,42
CENTAURO	9,78	2,53	1,93	35,00	8,40	16,68	23,59
PALMAR	8,07	2,31	1,82	58,13	1,68	7,64	22,13
FONAIAP-1	9,89	2,30	1,78	25,00	4,52	26,16	22,35
FONAIAP-2000	10,01	2,49	1,89	52,50	0,56	25,00	15,92
ARAURE-1	9,15	2,32	1,88	51,25	8,36	28,12	20,68
ARAURE-4	8,52	2,48	1,84	56,88	0,88	18,88	21,91
ARAURE-50	9,23	2,28	1,83	39,38	3,48	12,88	21,6
VI/04	7,06	2,64	1,85	52,50	2,00	18,88	15,4
VI/21-4	6,83	2,57	1,86	52,50	1,20	13,80	15,73
PN00A007	9,59	2,46	1,89	58,75	0,16	19,28	14,33
PN00A017	9,05	2,29	1,88	53,75	0,44	9,68	17,63
PN01A013	9,18	2,51	1,86	55,63	1,12	6,16	17,23
PN00A002A	9,02	2,24	1,81	51,25	3,08	17,64	20,8

LG, longitud del grano en mm; AG, ancho del grano en mm; EG, espesor del grano en mm; GE, porcentaje de grano entero; GY, porcentaje de grano yesoso; GP, porcentaje de grano panza blanca; CA, contenido aparente de amilosa en porcentaje.

La calidad molinera indicó un comportamiento intermedio con respecto a las variables PGE en las variedades FONAIAP-1, CENTAURO, ARAURE-50 y FUNDARROZ PN1 para las condiciones de este ensayo. Para la característica porcentaje de GY las variedades CENTAURO y ARAURE-1 presentaron baja calidad. Con respecto a la característica porcentaje de GPB la mayoría de los materiales presentaron altos contenidos de estos granos, a excepción de los materiales FUNDARROZ PN1, CENTAURO, PN00A017 y PN01A013 (Cuadro 3).

El carácter calidad culinaria mostró que de los materiales analizados CIMARRÓN, VENEZUELA-21, CENTAURO, PALMAR, FONAIAP-1, ARAURE-1, ARAURE-4, ARAURE-50, la línea PN00A022A y FUNDARROZ PN1, presentaron un contenido de amilosa intermedio adecuado a las exigencias del mercado venezolano. Es de hacer notar que el material FUNDARROZ PN1 fue removido del mercado nacional debido a poseer baja amilosa entre otras características

agronómicas indeseables, sin embargo, aquí se presenta tal comportamiento bajo las condiciones de este ensayo. Muchos autores limitan el contenido de amilosa intermedio entre 22% y 27%; sin embargo, en el mercado venezolano hay una tolerancia de hasta 20% de amilosa (Páez, 2004). El resto de los materiales no es aceptado por el consumidor, lo cual era de esperar en el caso de las variedades de vivero italiano, pues esa es su principal característica (VI/04 y VI/21-4) como se observe en el Cuadro 3.

Los datos provenientes de las variables cuantitativas fueron analizados por asociación de componentes principales de mayor aporte a la varianza total encontrándose que los 3 primeros factores explicaron 75% de la variación total; el primer factor explicó 38%, compuesto por las variables GE, GY y contenido de amilosa; el segundo factor explicó 24%, compuesto por las variables ancho del grano, espesor del grano y porcentaje de GPB; y el tercer factor explicó que 13% estuvo compuesto por la variable L del grano.

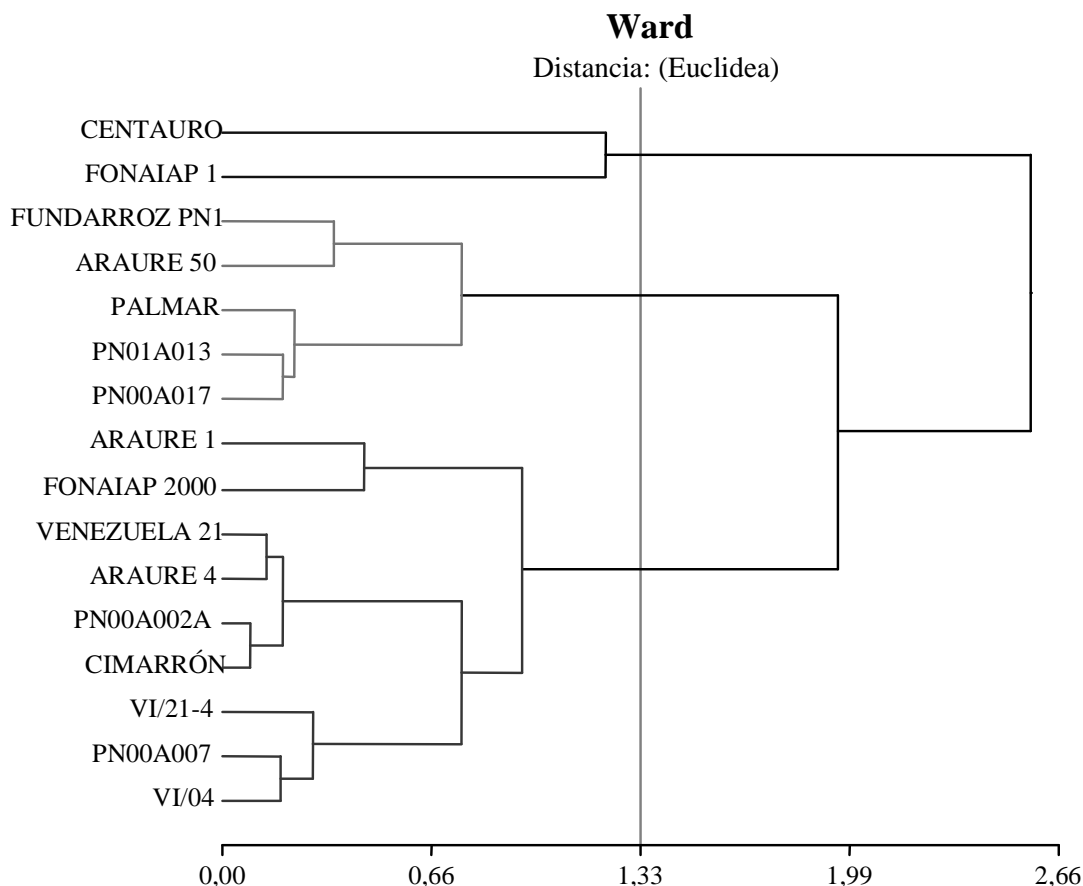
Al realizar el análisis de conglomerados se observó la formación de 3 grupos: el primero compuesto por las variedades CENTAURO y FONAIAP-1, el segundo grupo por FUNDARROZ PN1, ARAURE 50, PALMAR, PN01A013 y PN00A017, y el tercer grupo formado por ARAURE-1 FONAIAP-2000, VENEZUELA-21, PN00A002A, CIMARRÓN, VI/21-4, PN00A007 y VI/04 (Figura 1).

### Análisis del ADN de los materiales mediante microsatélites

De los 48 microsatélites probados sólo 19 presentaron bandas polimórficas, por lo tanto su porcentaje de loci polimórfico es de 0,4%, con la formación de 72 alelos; sin embargo, como los marcadores monomórficos no aportan información al diferenciar o estudiar variabilidad genética de los materiales, se excluyeron del

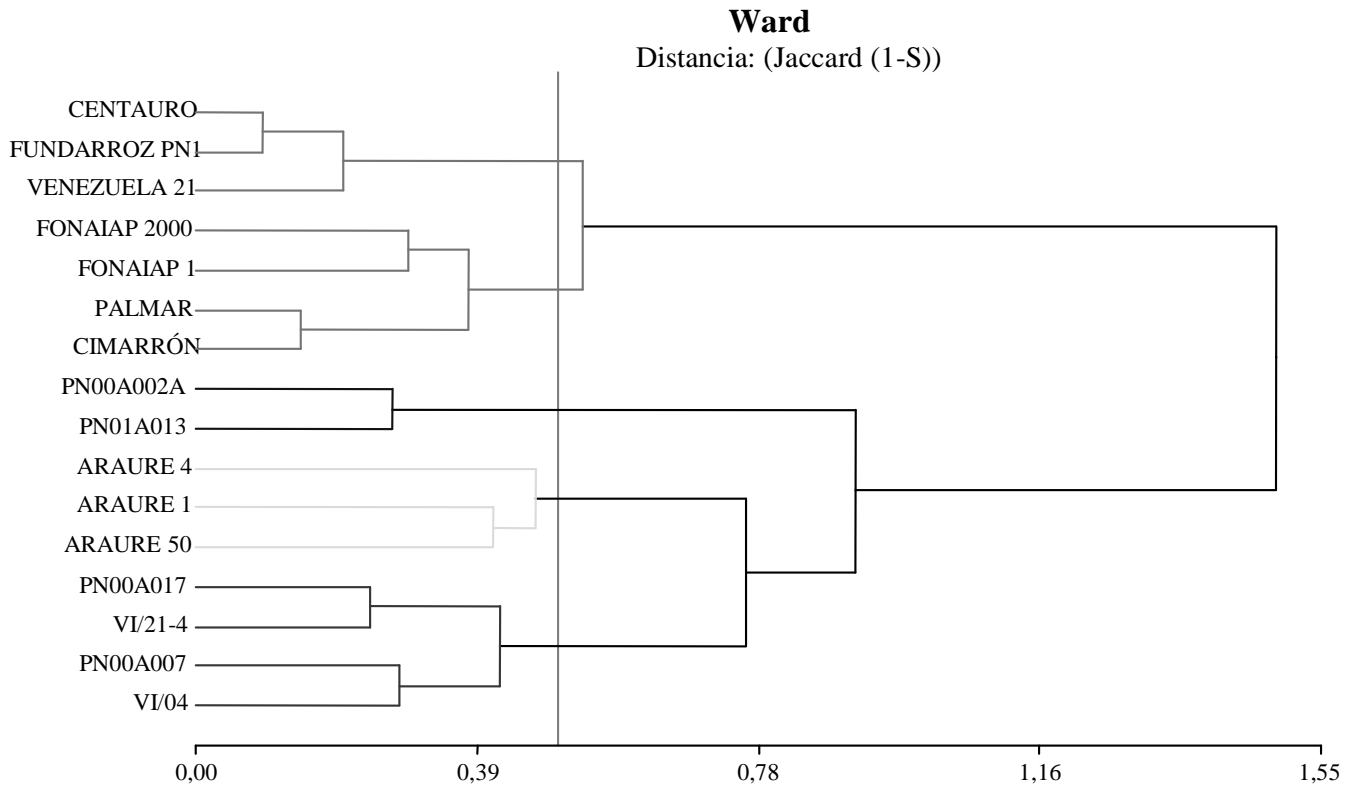
análisis estadístico. De los 19 marcadores polimórficos se obtuvo, un número promedio de alelos por marcador de 2,26 y al realizar un análisis de correspondencia múltiple se encontró que los 3 primeros factores explicaban 61% de las diferencias, con una contribución de lambda uno (47%) mayor a lambda 2 (14%) y éste a su vez mayor que lambda 3 (10%).

Al realizarles el análisis de conglomerados se obtuvo la formación de 4 grupos: el primer grupo compuesto por variedades FONAIAP-2000, FONAIAP-1, CENTAURO, FUNDARROZ PN1, VENEZUELA-21, PALMAR y CIMARRÓN, el segundo grupo formado por las líneas PN01A013 y PN00A022A; el tercer grupo por ARAURE-1, ARAURE-2 y ARAURE-50; y finalmente el cuarto grupo por las líneas élites VI/04, VI/21-4, PN00A007 y PN00A017 (Figura 2).



**FIGURA 1.** Árbol generado por la similitud debida a la distancia Euclidea promedio y Ward como método jerárquico de los 16 materiales de arroz utilizados en el ensayo para calidad molinera, culinaria y de apariencia. Encadenamiento promedio Ward, distancia Euclidea promedio, correlación cofenética 0,619. Variables estandarizadas.





**FIGURA 2.** Árbol generado por la similitud debida a la distancia 1-Jaccard y Encadenamiento promedio (Ward) como método jerárquico, con correlación cofenética 0,537, para los 16 materiales de arroz estudiados con marcadores microsátélites. Variables no estandarizadas.

Estos 4 grupos se formaron debido al polimorfismo presentado por los marcadores RM23, RM122, RM125, RM144, RM167, RM190, RM203, RM208, RM209, RM220, RM250, RM253, RM267, RM270, RM279, RM283, RM486, RM496, RM1104 y RM3855. Al respecto, Jiang *et al.* (2005) encontraron los marcadores SSR asociados o altamente significativos en un estudio cuantitativo de calidad de arroz RM210, RM167, RM81B para EG, RM16 para PGE y RM555 para porcentaje de grano partido. De la misma forma Fan *et al.* (2005), al realizar un estudio de QTL relacionado con la calidad culinaria utilizaron los marcadores RM283, RM23, RM431, RM251, RM16, RM253, RM528, RM170, RM190, RM210, RM224, RM270 y RM144, encontrando a RM209 y RM270 directamente relacionados con el contenido de amilosa.

Al realizar la correlación canónica entre los vectores provenientes del análisis de geles y los vectores provenientes del análisis cuantitativo de las variables de calidad, se evidenció que no existe una correlación entre

el análisis de geles y las variables cuantitativas de calidad, si bien se encontró correlación directamente proporcional de 68% entre las variables GE, GY y contenido de amilosa con las variables ancho, espesor de grano y porcentaje de GPB.

En un principio se planteó realizar el análisis conjunto de MM asociados a características de calidad de grano, seleccionados de acuerdo a trabajos realizados por otros autores, con características cuantitativas asociadas a la calidad del grano, sin embargo, existieron algunos factores de consideración como por ejemplo que debían validarse dichos marcadores en el reservorio genético representado por los materiales venezolanos; debían generarse poblaciones segregantes para estudiar bien estas características, y esto no era posible en el tiempo disponible para el presente estudio.

También hay que señalar que los parámetros que definen la calidad del grano son diversos, complejos, y altamente afectados por el ambiente.

Este ensayo se realizó en una época atípica usando dos repeticiones. Por todo esto, la correlación entre las variables morfológicas y la caracterización molecular no pudo estimarse, por lo cual se recomienda para posteriores estudios, la utilización de ensayos de campo con mayor número de repeticiones y localidades para limitar el efecto ambiental, luego de haber generado las poblaciones segregantes.

Con los resultados obtenidos se incrementa la información disponible sobre la calidad del grano y las características genéticas de un número de variedades y líneas élite del programa de mejoramiento del INIA. Este estudio puede tomarse como base para la realización de una caracterización exhaustiva de la calidad de grano de los materiales genéticos venezolanos, tanto en el aspecto fenotípico como en el molecular.

### CONCLUSIÓN

- Se realizó la caracterización morfológica y molecular respecto a la calidad de grano de 16 variedades comerciales de arroz de INIA, así como se analizó su variabilidad genética para cierto número de loci, algunos fueron escogidos al azar y otros por su conocida asociación con características de calidad. De esta forma, se aumenta la información disponible sobre la calidad y las características estudiadas de las variedades venezolanas generadas por el INIA.

### BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, M., E. Torres, O. Moreno, R. Álvarez, O. Torres, W. Castrillo, G. Torrealba, E. Reyes, M. Salazar y M. Navas. 2007. Base genética de los cultivares de arroz de riego liberados en Venezuela. *Agronomía Trop.* 57(3):197-204.
- Aluko, G., C. P. Martinez, J. Tohme, C. Castano, C. Bergman and J. H. Oard. 2004. QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* x *O. glaberrima*, *Theor. Appl. Gen.* 109:630-639.
- Bao, S., H. Corke and M. Sun. 2002. Microsatellites in starch synthesizing genes in relation to starch physicochemical properties in waxy rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 105:898-905.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1989. Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz: Guía de estudio. 75 pp.
- Chaudhary, R. C. and D. V. Tran. 2001. Specialty rice of the World: a prologue. **In:** Chaudhary R.C., D. V. Tran and R. Duffy (Edit.). *Specialty rice of the World: Breeding, production and marketing.* Science Publishers Inc, Enfield, USA. pp. 3-12.
- Cheng, Z., G. G. Presting, C. R. Buell, R. A. Wing and J. Jiang. 2001. High resolution pachytene chromosome mapping of bacterial artificial chromosomes anchored by genetic markers reveals the centromere location and the distribution of genetic recombination along chromosome 10 of rice. *Genetics* 157:1.749-1.757.
- Fan, C., X. Yu, Y. Xing, C. Xu, L. Luo and Q. Zhang. 2005. The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTL on the cooking and eating quality of rice in a doubled haploid line population. *Theor. Appl. Genet.* 110:1.445-1.452.
- GRAMENE. 2007. *Oryza*. Documento en línea. Disponible en: [http://www.gramene.org/oryza/rice\\_facts.html](http://www.gramene.org/oryza/rice_facts.html) Fecha de consulta: 14/02/2006.
- Gu, X. Y., S. F. Kianian and M. E. Foley. 2004. Multiple loci and epistases control genetic variation for seed dormancy in weedy rice (*Oryza sativa*). *Genetics* 166:1.503-1.516.
- Hirano, H. Y. and Y. Sano. 2000. Comparison of Waxy gene regulation in the endosperm and pollen in *Oryza sativa* L. *Genes Genet. Syst.* 75:245-249.
- Ibarra, D. 2002. Efectos del genotipo y tiempos de almacenamiento sobre la calidad culinaria de líneas experimentales de arroz (*Oryza sativa* L.). Tesis de pregrado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay Venezuela. 80 pp.
- InfoStat. 2004. InfoStat software Estadístico. Versión 1.1. Universidad de Córdoba, Argentina.
- Jiang, G., X. Hong, C. Xu, X. Li and Y. He. 2005. Identification of quantitative trait loci for grain appearance and milling quality using a double haploid rice population. *J. of Integrative Plant Biology* 47:1.391-1.403.
- Juliano, B. and C. Villareal. 1993. Grain quality evaluation of world rice. International Rice Research Institute (IRRI). Philippines, 205 pp.

- Lanceras, J., Z. Huang, O. Naivikul, A. Vanavichit, V. Ruanjaichon and S. Tragoonrung. 2000. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). *DNA Res.* 7:93-101.
- León, J. L. y R. Carreres, 2002. Calidad del arroz: criterios para una adecuada valoración. *Vida Rural* 145:38-40.
- Livore, A. 2004. Calidad Industrial y culinaria del arroz. *Revista IDIA XXI* 6:190-194.
- Lu, C. F., L. H. Shen, Z. B. Tan, Y. B. Xu, P. He, Y. Chen and 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.
- Martínez, C. P., S. Carabali, M. C. Duque y J. Silva. 2002. Progreso genético para calidad de grano de arroz (*Oryza sativa*) mediante selección recurrente. **In:** Mejoramiento poblacional, una alternativa para explorar los recursos genéticos del arroz en América Latina. Guimaraes E.P. (Ed.) Centro Internacional de Agricultura Trop. Cali, Colombia. pp. 296-317.
- Montoya, M., N. Rodríguez, I. Pérez-Almeida, J. Cova y L. Alemán. 2007. Caracterización morfológica de 13 variedades de arroz venezolanas. *Agronomía Trop.* 57(4):299-311.
- Páez, O. 2004. El Cultivo de arroz en Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Alfredo Romero (Ed.). Serie Manuales de Cultivo INIA N° 1. Maracay. 202 pp.
- Picca, A., M. Helguera, N. Salomón y A. Carrera, 2004. Marcadores Moleculares. **In:** Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Parte II. Herramientas básicas. Ediciones INTA. Echenique, V., Rubinstein, C., y L. Mroginski (Eds.). Parte II, Cap. 4 pp. 61-68.
- Septiningsih, E. M., J. Prasetyono, E. Lubis, T. H. Tai, T. Tjubaryat, S. Moeljopawiro and 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.* 107:1.419-1.432.
- Singh, K., T. Ishii, A. Parco, N. Huang, D. S. Brar and G. S. Khush. 1996. Centromere mapping and orientation of the molecular linkage map of rice (*Oryza sativa* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93:6 163-6 168.
- Tan, Y., M. Sun, Y. Xing, J. P. Hua, X. L. Sun, Q. Zhang and H. Corke. 2001. Mapping quantitative trait loci for milling quality, Protein content and color characteristics of rice using a recombinant inbred line population derive from and elite rice hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 103:1 037-1 045.
- Tan, Y. F., J. X. Li, S. B. Yu, Y. Z. Xing and C. G. Xu. 1999. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid Shanyou 63. *Theor. Appl. Genet.* 99:642-648.
- Temnykh, S., W. D. Park, N. M. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100:697-712.
- Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, and S. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research* 11:1 441-1 152.
- Thomson, M. J., T. H. Tai, A. M. McClung, X. H. Lai, M. E. Hinga, K. B. Lobos, Y. Xu, C. P. Martinez and 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.
- Wang, Z., F. Zheng, G. Shen, J. Gao, D. Snustad, M. Li, L. Zhang and M. Hong. 1995. The amylose content in rice endosperm is related to the post transcriptional regulation of the waxy gene. *Plant J.* 7:613-622.
- Webb, B. D. 1991. Rice quality and grades. **In:** Rice Utilization, Volume II. Luh B.S. (Ed.) Van Nostrand Reinhold AVI Book, New York. pp. 89-119.
- Yamanaka, S., I. Nakamura, K. N. Watanabe and Y. Sato. 2004. Identification of SNPs in the waxy gene among glutinous rice cultivars and their evolutionary significance during the domestication process of rice. *Theor. Appl. Genet.* 108:1 200-1 204.
- Yan, C., G. Liang, F. Chen, X. Li, S. Tang, C. Yi, S. Tian, J. Lu and M. Gu. 2003. Mapping quantitative trait loci associated with rice grain shape based on an indica/japonica backcross population. *Yi Chuan Xue Bao* 30:711-716.

Yoshida, S., M. Ikegami, J. Kuze, K. Sawada, Z. Hashimoto, T. Ishii, C. Nakamura and O. Kamijima. 2002. QTL analysis for the plant and grain characters of sake brewing rice using a doubled haploid population. *Breeding Sci.* 52:309-371.

Zhuang, J. Y., Y. Y. Fan, Z. M. Rao, J. L. Wu, Y. W. Xia and 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.* 105:1 137-1 145.