

IDENTIFICACION DE METODOLOGIAS PARA LA EVALUACION DE TOLERANCIA A TEMPERATURAS BAJAS EN ARROZ (*Oryza sativa* L.)

Olga Isabel Mejia M.*

Edward L. Pulver**

COMPENDIO

En el presente trabajo se identificaron metodologías para evaluar tolerancia a temperaturas bajas del arroz en las etapas de semilla seca esterilizada (se colocaron 50 semillas en una caja de Petri y se sometieron a 13°C hasta que los testigos tolerantes presentaran el 70 o/o de las semillas con coleoptilo ≥ 5 mm o 35 días después de la siembra), semilla pregerminada (se incubaron a 5°C durante 15 días, se sembraron en suelo esterilizado y se mantuvieron a temperatura ambiente por 7 días) y estado de plántula (plántulas con tercera hoja desarrollada se sometieron a 13°C durante 7 días y se transfirieron a temperatura ambiente otros 7 días). Estas metodologías sencillas, utilizando equipos no sofisticados, fueron capaces de evaluar gran cantidad de genotipos y en corto tiempo. Entre 624 líneas en F_5 y R_2 (dobles haploides del cultivo de anteras), provenientes de cruces destinados a mejorar la calidad culinaria de genotipos de una zona templada, se identificaron 19 líneas que combinaron la tolerancia a temperaturas bajas en los tres estados evaluados y excelente calidad culinaria, expresada en granos largos o extralargos bajo centro blanco y contenido de amilosa mayor de 23 o/o.

ABSTRACT

In this study the methodologies for the evaluation of the cold tolerance level of rice in the following stages were identified: germination from sterilized dry seeds (placed on a Petri dish at 13°C up the time when the controls showed 70 o/o of the seeds with coleoptile ≥ 5 mm or 35 days after planting), pregerminated seeds (incubated 5°C for 15 days and planted on sterilized soil and kept at ambient for 7 days) and in the seedling stage (seedlings with 3rd leaf well developed were kept at 13°C for 7 days, transferred to ambient temperature for other 7 days). This methodologies, utilizing non-sophisticated equipment, were capable of evaluating large quantities of genotypes in a short time. With this methodologies were evaluated in F_5 and R_2 (double haploids from the anther culture) 624 lines which coming from crosses destined to improve the cooking quality of genotypes from temperate zones and 19 lines were identified from the evaluation that combined tolerance to low temperature in the three evaluated stages and excellent cooking quality (larges or extralarges grain sizes, low white belly and more of 23 o/o amylose content).

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. A. A. 237, Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A. A. 6713, Cali, Colombia.

1. INTRODUCCION

El arroz es uno de los cereales más sembrados en el mundo y a pesar de considerarse como una planta tropical, se encuentra en zonas de altas latitudes y/o elevaciones donde la temperatura actúa como limitante. La baja temperatura muestra su efecto en la baja germinación de la semilla, en la elongación de las semillas pre-germinadas, en el retraso en el establecimiento de las plántulas en el campo, en el amarillamiento de las hojas y estancamiento en el crecimiento de las plántulas establecidas (IRRI, 1; Nishiyama, 5; Salahuddin y Vergara, 6; Yoshida, 8). El desarrollo de variedades que combinen la tolerancia con las demás características requeridas por los materiales comerciales, es hoy en día la vía más apropiada para ampliar la frontera agrícola al arroz, en regiones de América Latina afectadas por temperaturas bajas.

Sin embargo, varios factores limitan la obtención de estos genotipos. En primer lugar, los tipos indica poseen la principal fuente de intolerancia, pero sus características son deseables tanto para los productores como para los consumidores de América Latina; mientras que las fuentes de tolerancia se encuentran en los tipos japónica de mala calidad culinaria y alta incompatibilidad cuando se cruzan con los indica. En segundo lugar, la carencia de metodologías para la identificación de los recombinantes, ya que en condiciones de campo las evaluaciones se ven afectadas negativamente por variaciones debido a las oscilantes e incontrolables temperaturas; además, en estas zonas con problemas de temperatura, sólo es posible hacer una siembra al año prolongándose así todo el proceso de mejoramiento. Como existen diferentes tipos de tolerancia a temperaturas bajas de acuerdo con el estado de desarrollo los cuales son controlados por factores genéticos distintos (Kaneda y Beachell, 2), se hace necesario evaluar cada uno, debido a que no se conoce la relación entre ellos.

En el IRRI se han desarrollado metodologías sencillas para evaluar la tolerancia de materiales en fases tempranas (Kaw y Khush, 3;

Li y Vergara, 4; Visperas y Vergara, 7) para disminuir el número de genotipos a probar en etapas reproductivas, las cuales requieren equipos sofisticados y costosos.

El objetivo del trabajo fue identificar metodologías prácticas y confiables, desarrolladas en condiciones controladas y sin utilizar equipos sofisticados, para la evaluación en cualquier lugar y época de tolerancia a temperaturas bajas en la etapa de germinación, a partir de semilla seca y pre-germinada, y en el estado de plántula. El objetivo secundario fue evaluar, con las metodologías identificadas, 624 líneas de generaciones F_5 y R_2 (dobles haploides provenientes del cultivo de anteras) obtenidas de cruzamientos designados para combinar tolerancia a temperaturas bajas con calidad culinaria, destinadas al cono sur de América Latina.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Generalidades

El trabajo se llevó a cabo en el Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT entre octubre de 1986 y junio de 1987, empleando las variedades tropicales ORYZICA 1, IR 8 (recomendada para este tipo de evaluaciones) y CICA 8 susceptibles a temperaturas bajas; las variedades chilenas Oro, Diamante y cuatro líneas avanzadas QUILA (también chilenas y progenitores del germoplasma por evaluar), y como testigos tolerantes, la variedad norteamericana Caloro y la japonesa Fujisaka 5. También se incluyó como testigo la variedad norteamericana Lemont (otro de los parentales del germoplasma por evaluar) de reacción desconocida. Las temperaturas bajas se obtuvieron en neveras e incubadoras debidamente calibradas y controladas.

2.2. Evaluación de tolerancia en germinación a partir de semilla seca

Ensayo I Germinación en cajas de Petri: 50 semillas esterilizadas de cada una de las variedades testigo se depositaron en cajas de Petri plásticas de 11 cm de diámetro con papel de

filtro (Watmann No. 2). Cada caja de Petri constituyó una repetición y se tuvieron en total cuatro repeticiones. Las cajas se ubicaron en una incubadora calibrada a 13°C, en un diseño de bloques al azar; siendo el criterio de bloqueo los gradientes de temperatura presentados dentro del equipo y cada bloque se ubicó dentro de un nivel de la misma. Después de 15 días de incubación se observaron indicios de germinación, por lo que se iniciaron las evaluaciones de presencia de coleoptilo y radícula. A los 24, 28, 31 y 35 días se evaluó el desarrollo medido mediante los criterios de coleoptilo y radícula mayores o iguales a 2 y 5 mm.

Ensayo II Germinación en suelo: En una bandeja con suelo estéril se sembraron 50 semillas en dos surcos de cada uno de los testigos; cada bandeja constituyó una repetición y se tuvieron un total de cuatro para este ensayo. Las bandejas se incubaron a 13°C durante 40 días y como no se observaron indicios de germinación se colocaron a temperatura ambiente durante 7 días y se evaluaron la emergencia y las plántulas con altura ≥ 5 cm.

2.3. Evaluación de tolerancia en el establecimiento de semilla pregerminada

Se seleccionaron 25 semillas con un coleoptilo de 4 - 5 mm y se depositaron en un recipiente de vidrio (2.5 cm de diámetro por 2.5 cm de altura) con una lamina de agua estéril de 3 cm, lo cual constituyó una repetición. En las tres temperaturas de incubación (ensayos) se tuvieron cuatro repeticiones de cada una de las variedades evaluadas, en un diseño de bloques completos al azar donde el criterio de bloqueo fue el gradiente de temperatura dentro de las incubadoras.

Los ensayos estuvieron determinados por la temperatura de incubación de las semillas pre-germinadas y el tiempo de incubación al cabo del cual se evaluó la longitud del coleoptilo y la radícula: 12°C durante 14 ó 28 días (Ensayo I), 16°C durante 7, 14 ó 21 días (Ensayo II). En el Ensayo III, se incu-

baron las semillas pregerminadas a 5°C durante 2.5, 5, 10 o 15 días, luego se sembraron en suelo estéril y después de siete días se evaluó el porcentaje de plantas normales emergidas.

2.4. Evaluación de tolerancia en el estado de plántula

En una bandeja plástica (30 x 48 cm) se sembraron 20 semillas pregerminadas en un surco de cada uno de los testigos, constituyendo una repetición. Las bandejas se incubaron en casa de malla por 15 días hasta que presentaron la tercera hoja desarrollada y se sometieron, en un diseño de bloques al azar, a las siguientes temperaturas y tiempos de incubación: 10°C durante 5 o 10 días (Ensayo I) y 13°C durante 2, 4, 6, 8 o 10 días (Ensayo II). Luego se transfirieron a temperatura ambiente y pasados siete días se evaluó el porcentaje de supervivencia.

2.5. Evaluación de germoplasma

El germoplasma constó de 624 líneas de arroz, el 50 o/o de las cuales provino del sistema convencional de mejoramiento y se encontraba en generación F_5 y el otro 50 o/o dobles haploides obtenidas mediante el proceso de cultivo de anteras y se encontraba en R_2 . En cada una de las evaluaciones con las diferentes metodologías, se incluyeron los testigos tolerantes y susceptibles con los cuales se identificaron las metodologías. Los datos de la evaluación de las líneas en cada uno de los estados, se expresaron como porcentaje de los testigos tolerantes incluidos dentro de las evaluaciones, con el objeto de unificarlos.

3. RESULTADOS

3.1. Germinación a partir de semilla seca

Los criterios de diferenciación de embriones y presencia de coleoptilo, no estuvieron asociados con tolerancia a temperaturas bajas, ya que las variedades susceptibles las presentaron en altos porcentajes (embriones diferenciados: 31.5 o/o en CICA 8 y 80 o/o en IR 8; presencia de coleoptilo a los 24 días después

de la siembra: 53.5 o/o en CICA 8 y 96 o/o en IR 8).

A partir de los 24 días, el criterio de elongación del coleoptilo ≥ 5 mm separó claramente los testigos, ya que las variedades susceptibles no tuvieron la capacidad para elongar hasta este criterio. Aunque hubo diferencias entre testigos tolerantes, en todos los casos fueron estadísticamente diferentes de los testigos susceptibles. Aunque este criterio separa variedades tolerantes de susceptibles resulta dispendioso y difícil de evaluar.

La elongación del coleoptilo ≥ 5 mm, a partir de los 28 días separó igualmente las variedades por su reacción a temperaturas bajas, pero la mejor separación se obtuvo a los 35 días (Fig. 1). Mediante este criterio los testigos se separaron en cuatro grupos: uno altamente tolerante compuesto por la línea avanzada QUILA 66304 (80 o/o de las semillas con coleoptilo ≥ 5 mm); uno medianamente tolerante compuesto por Diamante, QUILA 64117 y 67103; uno intermedio compuesto por la variedad chilena ORO (38.6 o/o), indicando que cualquier testigo igual a este demuestra comportamiento aceptable, y un grupo susceptible compuesto por Lemont, IR 8, CICA 8 y ORYZICA 1, de nula capacidad para elongar (0 o/o). El criterio fue fácil de evaluar, separó mejor a los testigos susceptibles de los tolerantes y el coeficiente de variación fue menor (27.4 o/o) que el obtenido con las lecturas a los 28 (60.1 o/o) y 31 días (37.1 o/o).

El criterio de elongación de la radícula ≥ 5 mm a los 35 días después de la siembra también separó las variedades: 64.1 o/o de las semillas en QUILA 66304, 40.7 o/o en Diamante, 14.5 o/o en Fujisaka 5, 5.1 o/o en IR 8 y 0 o/o en CICA 8. Pero es una variable difícil de determinar y el coeficiente de variación fue mayor (56.4 o/o):

En la prueba de germinación en suelo estéril, según el criterio porcentaje de emergencia hubo cierta tendencia de los genotipos a reaccionar diferencialmente, pero al separarse estadísticamente se conformó un grupo

intermedio que no se diferenció ni del susceptible ni del tolerante. El criterio porcentaje de plántulas con altura ≥ 5 cm separó los testigos de acuerdo con su reacción conocida a temperaturas bajas (47.5 o/o en QUILA 66304, 25.5 o/o en Diamante, 5 o/o en Fusijaka 5, 0.5 o/o en Lemont y 0 o/o en IR 8 y Cica 8); sin embargo es de baja precisión ($CV=97.6$ o/o), requiere más tiempo (40 días las bandejas permanecen en neveras y luego se someten al estrés de la temperatura ambiente) y resulta dispendioso el manejo de suelo en incubadoras.

Los criterios asociados con tolerancia a temperaturas bajas presentaron correlación positiva y altamente significativa (0.92 entre el porcentaje de semilla con coleoptilo ≥ 5 mm y el porcentaje de semillas con radícula ≥ 5 mm evaluados a los 35 días, 0.95 entre porcentaje de plántulas ≥ 5 cm y la elongación del coleoptilo), lo que indica que las dos metodologías se pueden utilizar confiablemente para evaluar por tolerancia a temperaturas en la etapa de germinación a partir de semilla seca.

En resumen, el criterio elongación del coleoptilo ≥ 5 mm a los 35 días se seleccionó para evaluar por tolerancia a temperaturas bajas en la etapa de germinación a partir de semilla seca, ya que requiere menor tiempo y además como se realiza en cajas de Petri es posible evaluar gran cantidad de genotipos y controlar más fácilmente la contaminación.

3.2. Germinación a partir de semilla pregerminada

3.2.1. Incubación a 12°C

La evaluación de la elongación del coleoptilo y la radícula a los 14 y 28 días fue baja para todas las variedades tanto susceptibles como tolerantes; la baja temperatura inhibió el crecimiento no permitiendo que algunos genotipos expresaran su tolerancia a este estrés. En resumen, esta metodología presenta problemas para la separación de genotipos, además el criterio de evaluación se encuentra afectado por factores independientes de las temperaturas bajas como el vigor inicial que presentan algunas variedades y las diferencias

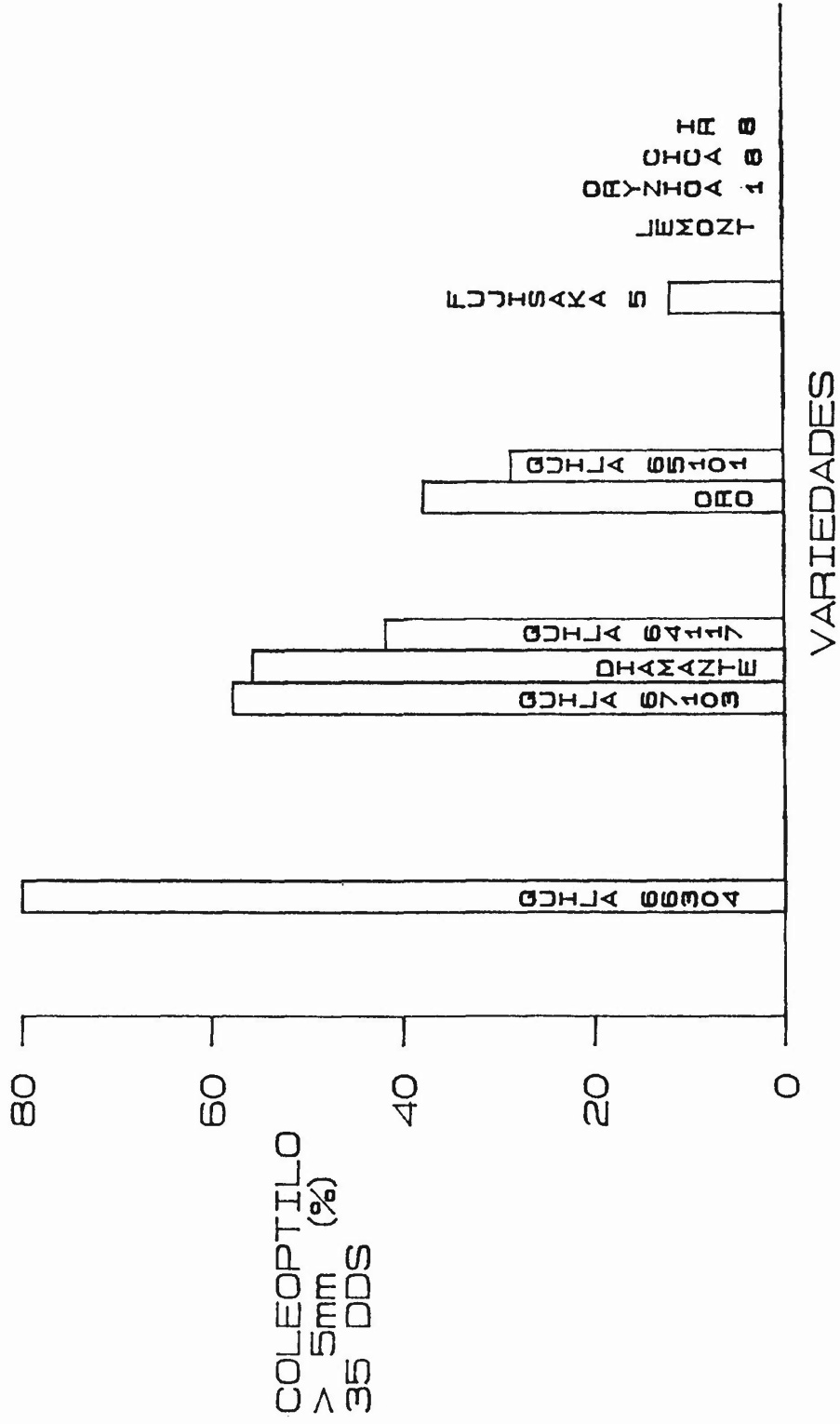


Fig. 1. Porcentaje de elongación del coleoptilo ≥ 5 mm de semillas secas de 11 variedades de arroz, sometidas a 13°C por 35 días.

en elongación entre variedades enanas y semienanas.

3.2.2. Incubación a 16°C

La elongación del coleoptilo y la radícula presentó interacción de variedad por tiempo de incubación, lo que indica que las variedades reaccionaron diferencialmente de acuerdo con el tiempo de incubación a esa temperatura. Después de 7, 14 y 21 días los testigos susceptibles IR 8 y CICA 8 presentaron las más bajas elongaciones comparados con los testigos resistentes. Sin embargo, las diferencias en elongación fueron estadísticamente significativas a los 14 días mediante el criterio de elongación del coleoptilo (Diamante: 78.5 mm, QUILA 66304: 73.7 mm, Caloro: 55.4, IR 8: 21.1 y CICA 8: 18.8 mm), estableciéndose como el mejor criterio de evaluación a 16°C para separar testigos de acuerdo con su reacción conocida a temperaturas bajas.

3.2.3. Incubación a 5°C

La emergencia de testigos susceptibles IR 8 y CICA 8, se vió afectada a medida que aumentaba el período de incubación a 5°C aunque con diferencias entre ellas; con 2.5 días de incubación CICA 8 se comportó de igual forma que los testigos tolerantes (Fig. 2). Sin embargo, con las incubaciones por 5, 10 y 15 días se vieron igualmente afectadas, reduciendo al mínimo su emergencia hasta 4.5 o/o promedio con 15 días de incubación. En contraste, la emergencia de los testigos tolerantes Caloro, Diamante y QUILA 64117 y 66304 permaneció constante y aunque se presentaron pequeñas reducciones en algunas de ellas, no alcanzaron a ser significativas. Estos resultados demuestran que una incubación de semilla pregerminada (coleoptilo 4-5 mm) por un período de 15 días a 5°C, proporciona un estrés suficiente para que después de 7 días de ser sembradas a temperatura ambiente, y mediante el porcentaje de emergencia evaluado, se establezca una separación de genotipos tolerantes y susceptibles en la etapa de elongación temprana de semilla pregerminada. Por tanto, esta metodología se seleccionó

para evaluar la tolerancia a temperaturas bajas en el estado de semilla pregerminada, ya que presenta un criterio fácilmente evaluable, requiere poco tiempo y mediante ella es posible evaluar también gran cantidad de genotipos en poco espacio.

3.2.4. Correlación entre metodologías a partir de semilla pregerminada

A pesar de la baja elongación de los testigos a 12°C, estuvo correlacionada significativamente con el porcentaje de emergencia de los testigos al incubar por 15 días a 5°C; la elongación del coleoptilo evaluada a 12°C a los 14 y 28 días de incubación presentó valores de 0.75 y 0.80 ($p > 0.01$), respectivamente.

De la misma forma, el comportamiento de los testigos a 16°C evaluado mediante la elongación del coleoptilo, presentó alta correlación con el porcentaje de emergencia tras incubar a 5°C, con valores de 0.64, 0.88 y 0.71 ($p > 0.01$) a los 7, 14 y 28 días, respectivamente. La elongación de la radícula también presentó altos coeficientes de correlación con el porcentaje de emergencia.

En resumen, la reacción de los testigos a 5°C es indicativa de la reacción tanto a 12°C como a 16°C; por tanto evaluando los genotipos a 5°C puede predecirse de alguna forma el comportamiento en las otras temperaturas.

3.3. Estado de plántula

3.3.1. Incubación a 10°C

Con un período de incubación de 5 días la supervivencia de las variedades a temperatura ambiente no se vió afectada. Con un período de incubación de 10 días las variedades IR 8, CICA 8 y Lemont redujeron significativamente su emergencia, mientras que las variedades tolerantes estuvieron afectadas medianamente por la temperatura. En estas condiciones de incubación, aunque hubo diferencias significativas entre testigos tolerantes y susceptibles, la supervivencia se redujo hasta niveles inter-

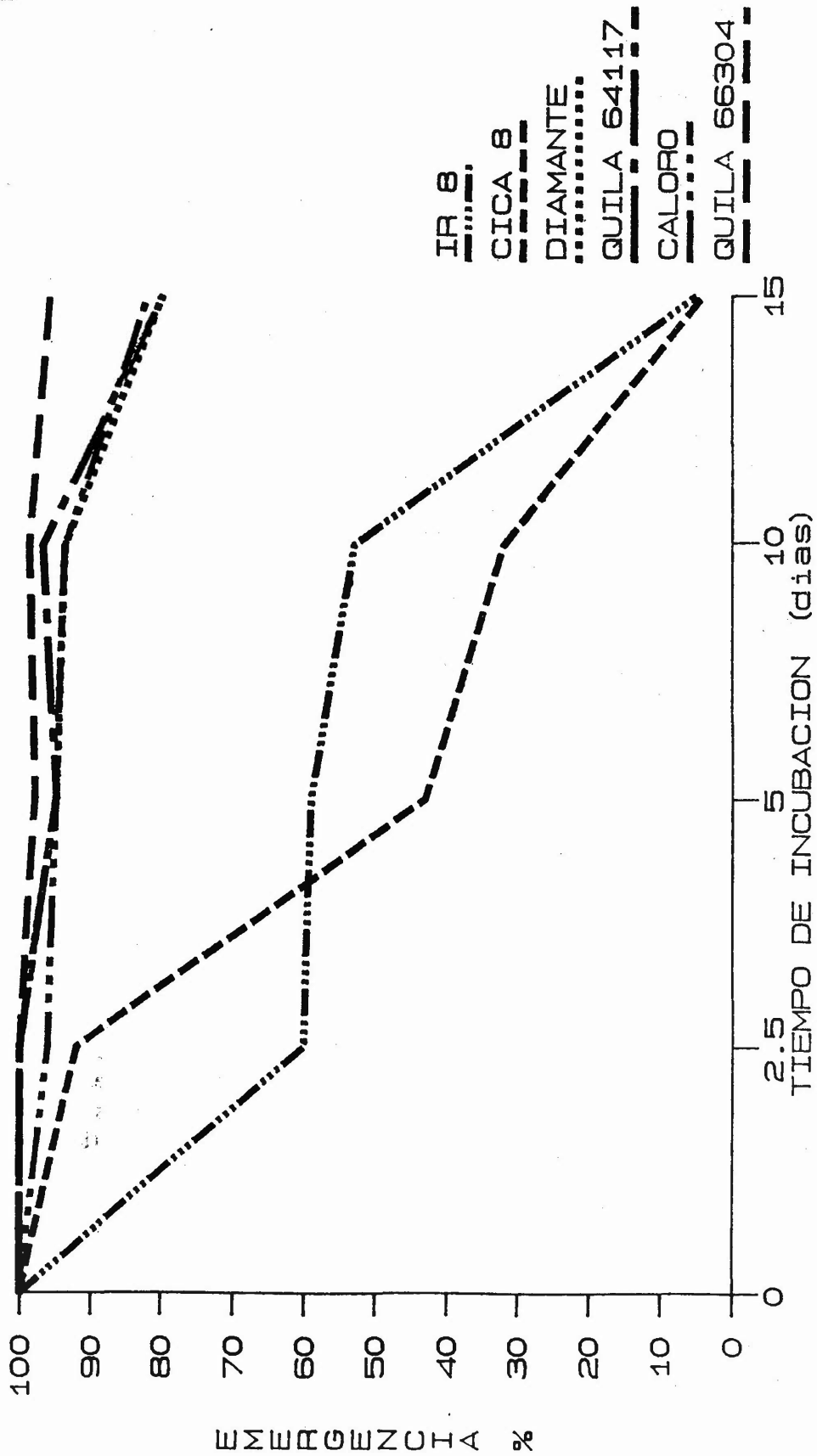


Fig. 2. Emergencia (o/o) a temperatura ambiente de seis variedades de arroz, después de haber sometido semillas pregerminadas a 5°C por 15 días.

medios en los testigos tolerantes, resultando ésto en una condición extrema debido posiblemente a condiciones intrínsecas del equipo (como HR del 100 o/o) además del largo período de incubación (10 días).

3.3.2. Incubación a 13°C por diferentes períodos

Teniendo en cuenta el porcentaje de emergencia a temperatura ambiente después de siete días de haber incubado a 13°C, las variedades evaluadas se vieron afectadas diferencialmente por el tiempo de incubación (Fig. 3). Variedades susceptibles como ORYZICA 1 e IR 8 disminuyeron drásticamente su supervivencia a partir de cuatro días de incubación a esta temperatura, hasta llegar a 1 y 0 o/o, respectivamente, con 10 días. En contraste, las variedades tolerantes como Diamante, Caloro y QUILA 64117 y 67103 mantuvieron altos porcentajes de supervivencia con las incubaciones menores o iguales a 8 días, ya que con 10 días, los porcentajes se redujeron hasta el punto en que no fueron significativamente diferentes de los porcentajes presentados por los testigos susceptibles.

Testigos como CICA 8 y Lemont, a pesar de ser susceptibles en otros estados, presentaron el mismo comportamiento de los testigos tolerantes, sugiriéndose así su tolerancia para estos dos estados.

En conclusión, las exposiciones por 6 y 8 días separaron significativamente testigos tolerantes de susceptibles, mediante el porcentaje de emergencia evaluado después de siete días a temperatura ambiente. Por lo tanto, se seleccionó un período intermedio de 7 días para incubar plántulas en estado de tercera hoja desarrollada a 13°C para luego evaluar el porcentaje de supervivencia después de siete días a temperatura ambiente, como metodología para evaluar tolerancia a temperaturas bajas en el estado de plántula.

3.4. Evaluación del germoplasma

En la etapa de semilla seca, 80 o/o del ger-

moplasma presentó valores menores de 50 o/o del testigo tolerante, indicando que la capacidad de germinar en baja temperatura tal vez es controlada por multigenes recesivos y/o aditivos y por lo tanto de herencia complicada. Con el comportamiento de los testigos tolerantes se estableció un límite de confianza y tan sólo el 11.5 o/o del germoplasma fue igual al testigo tolerante.

En el estado de semilla pregerminada, 65 o/o del germoplasma presentó valores superiores al 50 o/o del testigo tolerante y 45 o/o fue igual al testigo tolerante. De igual forma, en la evaluación hecha en el estado de plántula, alta proporción del germoplasma fue tolerante, ya que 79.6 o/o de él presentó valores de supervivencia mayores al 50 o/o del testigo tolerante. También en este estado, y mediante el límite de confianza, se identificó un 30.1 o/o del germoplasma igual a los testigos tolerantes.

Analizando el comportamiento de las líneas en los tres estados y seleccionando también por criterios de calidad culinaria, como tamaño de grano (largos o extralargos), centro o panza (baja) y contenido de amilosa (mayor de 23 o/o), se identificaron 19 genotipos que reunieron todas estas características (Cuadro 1).

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Las metodologías identificadas para evaluar tolerancia a temperaturas bajas, son sencillas, desarrolladas en equipos no sofisticados, con las cuales es posible evaluar gran cantidad de genotipos en cualquier lugar y época.
- 4.2. Sometiendo semillas secas en cajas de Petri a 13°C considerando el porcentaje de coleoptilo ≥ 5 mm después de 35 días, se evaluó confiablemente por tolerancia en este estado.
- 4.3. Sometiendo semillas pregerminada (coleoptilo 4 - 5 mm) durante 15 días a 5°C,

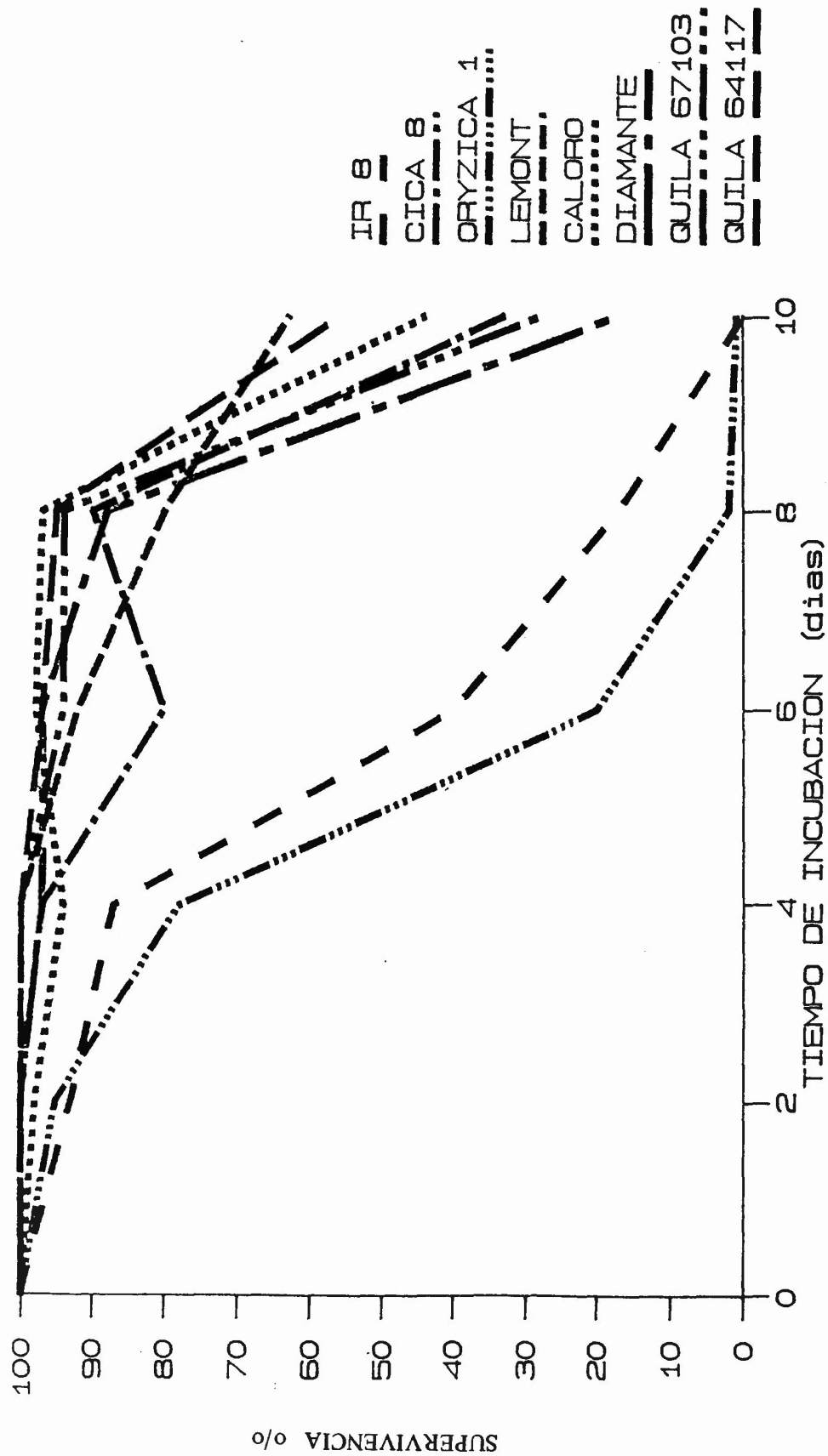


Fig. 3. Supervivencia (o/o) a temperatura ambiente de ocho variedades de arroz, después de siete días de haber sometido plántulas de arroz en estado de tercera hoja desarrollada a 13°C por 2, 4, 6, 8 y 10 días.

Cuadro 1

Listado de líneas que poseen tolerancia a temperaturas bajas en las tres etapas con sus correspondientes características culinarias

Pedigree	Porcentaje testigo tolerante			Calidad de grano *		
	Semilla seca	Semilla pregerminada	Plántula	Centro blanco	Amilosa	Tipo de grano
CT 6241 - 15 - CA - 10	100	68	95	0.2	24	L
CT 6743 - 25 - 3 - 10 - M	100	74	94	0.6	24	EL
CT 6743 - 25 - 3 - 8 - M	100	95	100	0.6	23	EL
CT 6743 - 25 - 3 - 8 - M	100	100	100	0.2	25	EL
CT 6743 - 42 - 8 - 4 - M	100	89	100	0.4	22	EL
CT 6744 - 18 - 6 - 11 - M	100	100	93	0.4	24	L
CT 6744 - 18 - 6 - 12 - M	100	89	100	0.6	25	EL
CT 6744 - 18 - 6 - 7 - M	100	100	100	1.0	24	L
CT 6744 - 18 - 6 - 9 - M	89	100	100	0.6	25	L
CT 6744 - 18 - 9 - 2 - M	100	89	100	0.8	24	L
CT 6744 - F ₂ - CA - 10	86	58	100	0.4	24	L
CT 6744 - F ₂ - CA - 11	100	68	100	3.0	22	L
CT 6744 - F ₂ - CA - 15	86	101	100	1.4	25	L
CT 6744 - F ₂ - CA - 3	94	74	93	0.4	25	L
CT 6745 - 1 - CA - 1	97	100	93	0.2	22	L
CT 6746 - F ₂ - 1 - 1 - M	109	100	100	0.2	22	L
CT 6746 - 6 - 12 - CA - 1	100	97	95	0.2	23	EL
CT 6746 - 12 - CA - 5	100	100	100	0.0	24	L
CT 6749 - 44 - 5 - 9 - M	91	84	100	0.6	22	L

* Análisis hecho en semillas cosechadas en Chile.

sembrándolas en barro esteril y evaluando el porcentaje de emergencia después de 7 días a temperatura ambiente, es una metodología práctica para evaluar la tolerancia en la etapa de semilla pregerminada.

- 4.4. Sometiendo plántulas con tercera hoja de sarrollada a 13°C por 7 días y evaluando el porcentaje de sobrevivencia después de siete días a temperatura ambiente, se evalúa por tolerancia a baja temperatura del aire principalmente.
- 4.5. La tolerancia en el estado de semilla pregerminada están controladas posiblemente por los mismos factores genéticos; estos factores son posiblemente independientes de los factores responsables de la tolerancia en semilla seca.
- 4.6. Se identificaron 19 genotipos que combinan tolerancia a temperaturas bajas con excelente calidad culinaria (granos largos o extralargos, bajo centro blanco y contenido de amilasa superior al 23 o/o).

7. BIBLIOGRAFIA

1. INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. Annual report, 1978. p. 140.
2. KANEDA, C; BEACHELL, H. M. Resistance of japonica x indica lines to low temperature. In: Rice breeding. Los Baños, I R R I, 1972.
3. KAW, R. N.; KHUSH, G. S. Heterosis in traits related to low tolerance in rice. Philipp. J. Crop. Sci. v. 10, n. 2. p. 93-105. 1985.
4. LI, T. G.; VERGARA, B. S. Change in the leaves of rice seedlings under low water temperature. Sabrao Journal. v. 13, n. 1. p. 39-45. 1981.
5. NISHIYAMA, L. Effects of temperature on the vegetative growth of rice plant. In: Climate and rice. Los Baños, IRRI, 1976. p. 159-167.
6. SALAHUDDIN, A. B.; VERGARA, B. S. Criteria for screening rice cultivars resistant to low water temperature at seedling stage. Sabrao Journal. v. 6. p. 156-161. 1984
7. VISPERAS, R. M.; VERGARA, B. S. Screening methods for rice cold tolerance. GEU. Training Course with special emphasis on rice cold tolerance. Los Baños, IRRI. September, 1982. 22 p.
8. YOSHIDA, S. Fundament of rice crop science. Los Baños, IRRI, 1981 p. 20 - 25.