UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN AGRONOMÍA CON ÉNFASIS EN DESARROLLO RURAL

Evaluación de la respuesta agronómica a baja fertilización nitrogenada de líneas mutantes de arroz (*Oryza sativa* L.)

Trabajo de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Agrarias de la Universidad Nacional bajo la modalidad de tesis para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

VALERY AGUILAR QUESADA

Tutor

Dr. Rafael Orozco Rodríguez

Asesores

Dr. Roger Muñoz Hernández

M. Sc. Mairon Madriz Martínez

Heredia, Costa Rica

Mayo, 2024

Trabajo de graduación aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Agrarias de la Universidad Nacional, para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Desarrollo Rural.

MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

M.Sc. Clemens Ruepert
Representante del Decanato de la Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar

M.Sc. Andrés Alpízar Naranjo
Director de la Escuela de Ciencias Agrarias

Dr. Rafael Orozco Rodríguez
Tutor

Dr. Roger Muñoz Hernández
Lector

M. Sc. Mairon Madriz Martínez
Lector

Valery Aguilar Quesada
Postulante

RESUMEN

El arroz es una de las materias primas más producidas en el mundo, es fundamental para la seguridad alimentaria a nivel mundial y nacional. El rendimiento del cultivo depende del uso de fertilizantes nitrogenados, el uso inadecuado provoca repercusiones ambientales y económicas, por ello son necesarias alternativas para reducir su impacto. El objetivo de esta investigación fue evaluar líneas mutantes de arroz utilizando variables morfológicas, fisiológicas y de rendimiento para la selección de líneas con respuesta diferenciada a baja fertilización nitrogenada. Se evaluaron tres materiales mutantes de arroz: UNA-1182, UNA-1188 y UNA-199; con dos dosis: 200 kg N/ha y 80 kgN/ha. Se utilizaron variables morfológicas como: altura y macollamiento, fisiológicos como: índice de contenido de clorofila (ICC) e índices de vegetación (IVs), el rendimiento y sus componentes, para seleccionar la línea de mejor respuesta. Se encontró que los materiales son plantas semienanas y con macollamiento escaso y débil. Los ICC presentaron un aumento con la edad del cultivo, sin embargo, el UNA-1182 no presentó cambios con el testigo. Los IVs utilizados fueron indicadores del estado de nitrógeno en la planta, los materiales UNA-1188 y UNA-1199 tuvieron valores altos a 200 kg N/ha, mientras que al reducir su dosis los valores disminuyeron, mientras UNA-1182 no cambió significativamente. Los IVs presentaron los coeficientes de correlación más altos con los ICC al considerar todas las etapas. El UNA-1182 mostró el mayor rendimiento y en general en los componentes de rendimiento. Se seleccionó el material UNA-1182 por su comportamiento positivo en las variables estudiadas, además registró los menores cambios porcentuales en la respuesta con la disminución de N. Los materiales mutantes conservaron características del material de origen y presentaron una respuesta diferenciada a las bajas dosis de nitrógeno, sin embargo, deben continuar en investigación para que su respuesta sea competitiva con las variedades disponibles actualmente.

ABSTRACT

Rice is one of the most produced grains in the world, it is essential for food security at a global and national scale. Crop yield depends on the use of nitrogen fertilizers; improper use causes environmental and economic issues and some alternatives are necessary to reduce its impact. The objective of this research was to evaluate mutant rice genetic materials using morphological, physiological and yield components for the selection of lines with a differentiated response to low nitrogen fertilization. Three mutant rice genetic materials were evaluated: UNA-1182, UNA-1188 and UNA-199; with two doses: 200 kg N/ha and 80 kg N/ha. Morphological variables were used such as: height and tillering, physiological variables such as: chlorophyll content index (CCI) and vegetation indices (VIs), yield and its components were used to select the genetic material with the best response. The materials are semi-dwarf plants with scarce and weak tillering. The ICC showed an increase with the crop age, however, UNA-1182 did not present changes with the control. The VIs used were indicators of the nitrogen status in the plant, the UNA-1188 and UNA-1199 materials had high values at 200 kg N/ha, while when their dose was reduced the values decreased. The VIs presented the highest correlation coefficients with the ICC when all stages were considered. The UNA-1182 was the highest in yield and in most of the yield components. The UNA-1182 was selected for its positive behavior in the variables studied and it also recorded the lowest percentage changes in the variables with the decrease of N. The mutant rice genetic materials kept traits of the original genetic material and presented a differentiated response to low doses of nitrogen, however, they must continue research so that their response is competitive with the varieties currently available.

DEDICATORIA

A mi madre, a mi padre, mis hermanas y especialmente a mis abuelos, a todos por el amor incondicional que siempre me brindan.

A las personas que amo y admiro, para las que este cierre representa mayor tiempo de calidad junto a ellos.

A mí misma por mantenerme perseverante, ser fiel a mis ideales y llegar hasta el final de esta etapa.

A todas las mujeres que debemos sostener este frente de batalla y lidiar con las personas que temen a nuestro liderazgo y éxito.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco inmensamente el apoyo y comprensión de mi familia, mi pareja, amigas y amigos.

A mi grupo asesor, Dr. Rafael Orozco Rodríguez y Dr. Róger Muñoz Hernández por el apoyo y motivación desde el inicio para apoyarme con el proceso desde su perspectiva profesional y como personas. A M. Sc. Mairon Madriz Martínez, quien ha sido esencial para el desarrollo de este trabajo y mi principal instructor de crecimiento profesional. Gracias infinitas por el acompañamiento en giras, por la dedicación y las horas de trabajo juntos.

A todas las personas que colaboraron en las actividades que formaron parte del ensayo. Las personas funcionarias de BIOVERFI y los estudiantes asistentes, junto con el personal de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez del INTA, sin el apoyo de ustedes estas experiencias no se podrían lograr.

A las personas que me dieron un acompañamiento técnico, M. Sc. Alejandro Vargas Martínez por la asesoría en la parte estadística, a M. Sc. Betsy Cedeño Montoya de la Escuela de Geografía por el apoyo con las herramientas de análisis multiespectral y a Carlos Granados Salmerón por facilitar las instalaciones y el equipo para completar los análisis.

A las personas con las que he compartido estos años como estudiante asistente, a M.Sc. Andrés Alpízar Naranjo, a M.Sc. José Pablo Jiménez Castro, a M.Sc. Arlette Orozco Rodríguez y al equipo del Programa de Producción Sostenible Rumiantes Menores, que acompañaron e hicieron posible tantos años de estudio.

A todas las mujeres inspiradoras que han estado en mi camino: madre, hermanas, docentes, compañeras, amigas e investigadoras.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 1
2. OBJETIVOS 5
2. 1. Objetivo general 5
2. 2. Objetivos específicos 5
3. MARCO TEÓRICO 6
3.1. Cultivo del Arroz en Costa Rica 6
3.2. Nitrógeno en el suelo 7
3.3. Nitrógeno en las plantas de arroz 7
3.4. Mecanismos de absorción y asimilación de nitrógeno 9
3.5. Métodos no destructivos para estimar el estado de nitrógeno en plantas 11
3.5.1. Contenido de clorofila y la relación con el estado de nitrógeno 11
3.5.2. Imágenes multiespectrales e índices de vegetación 12
3.6. Mejoramiento genético por inducción de mutaciones 13
4. MARCO METODOLÓGICO 14
4.1. Sitio del estudio 14
4.2. Material genético 16
4.3. Tratamientos 16
4.4. Diseño del área experimental 17
4.5. Preparación del terreno 18
4.6. Siembra 19
4.7. Fertilización 19
4.8. Variables a evaluadas 20
4.8.1. Variables morfológicas 20
4.8.2. Variables fisiológicas 21
4.8.3. Variables de rendimiento 23
4.9. Análisis de datos 23
4.10. Selección de las líneas mutantes 24
5. RESULTADOS 25
5.1. Variables morfológicas 25
5.2. Variables fisiológicas 28
5.2.1. Índice de contenido de clorofila (ICC) 28
5.2.2. Índices de vegetación 32
5.2.3. Etapas fenológicas 39
5.3. Variables de rendimiento 41
5.4. Selección de líneas mutantes 47
6. DISCUSIÓN 53
6.1. Variables morfológicas 53

6.2. Variables fisiológicas.....55
6.2.1. Índice de contenido de clorofila.....55
6.2.2. Índices de vegetación.....56
6.2.3. Etapas fenológicas.....60
6.3. Variables de rendimiento.....61
6.4. Selección de la línea mutante.....64
7. CONCLUSIONES.....66
8. RECOMENDACIONES.....67
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....68
10. ANEXOS.....76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de suelo del lote del sitio de estudio 16
Tabla 2. Tratamientos según material genético y dosis de nitrógeno 17
Tabla 3. Aplicación de urea (46%) según fraccionamiento, momento de aplicación y dosis de N.....19
Tabla 4. Combinación de bandas espectrales para los índices de vegetación 22
Tabla 5. Variación del promedio del VI en el tiempo por tratamiento 34
Tabla 6. Valores de coeficiente de determinación de Pearson y probabilidades de las correlaciones entre el contenido de clorofila y los índices de vegetación en cada medición y total 39
Tabla 7. Estimación de días para el 50% de floración de cada tratamiento mediante ajuste de regresión lineal.....40
Tabla 8. Comparación de los parámetros de selección de los materiales genéticos al 40% (T5-T8) respecto al testigo al 100% (T1). 49
Tabla 9. Comparación del CR5272 (testigo) con los materiales genéticos en cambios porcentuales en los parámetros de selección. 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo fenológico del cultivo del arroz en la región Chorotega.....6
Figura 2. Ubicación de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez, Cañas, Guanacaste ..15
Figura 3. Distribución y dimensiones de las unidades experimentales, con los ocho tratamientos y cuatro repeticiones 18
Figura 4. Altura promedio de la planta según el tratamiento de fertilización y material genético 26
Figura 5. Altura promedio por el factor material genético. 27
Figura 6. Macollamiento promedio por planta de acuerdo al (A) tratamiento y (B) material genético. 28
Figura 7. Índice de clorofila en las tres mediciones (A) y promedios de los materiales genéticos a los 29 ddg (B), 43 ddg (C)y 64 ddg (D). 29
Figura 8. Variación en el índice de clorofila según día de medición por tratamiento. 32
Figura 9. Valores de NDVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a cada la fertilización nitrogenada 33
Figura 10. Valores de RVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada. 35
Figura 11. Valores de GNDVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada. 36
Figura 12. Valores de GVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada. 37
Figura 13. Valores de CIg para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada. 38
Figura 14. Ajuste lineal de los porcentajes de floración de cada tratamiento para la estimación del 50% de floración 40
Figura 15. Rendimiento promedio por hectárea de acuerdo al (A) tratamiento y (B) material genético. 42
Figura 16. Biomasa promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético. 43
Figura 17. Longitud de panícula promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético. 44
Figura 18. Esterilidad promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético. 45
Figura 19. Peso promedio 100 granos según el (A) tratamiento y (B) material genético.....46
Figura 20. Matriz de correlación entre rendimiento, índices de clorofila, variables morfológicas y componentes de rendimiento 48
Figura 21. Cambios porcentuales de las variables morfológicas, fisiológicas (A) y componentes de rendimiento (B) dentro de cada material genético al disminuir la dosis de nitrógeno. 51
Figura 22. Análisis de componentes principales para los cuatro materiales genéticos. 52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Plan de fertilización.....74
Anexo 2. Altura y macollamiento promedio de los tratamientos por material y dosis de fertilizante nitrogenado. 74
Anexo 3. Tabla de contenido de clorofila obtenido por SPAD en las tres etapas fenológicas según tratamiento. 75
Anexo 4. Tabla de promedios de rendimiento y componentes de rendimiento.....75
Anexo 5. Valores de NDVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición. 76
Anexo 6. Valores de RVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición. 76
Anexo 7. Valores de GNDVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición. 77
Anexo 8. Valores de GVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición. 77
Anexo 9. Valores de CIg para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición. 78
Anexo 10. Tabla de estadísticos de las correlaciones entre rendimiento, índices de clorofila y las variables morfológicas y componentes de rendimiento.....78

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del arroz se ubicó en la décima posición de materias primas más producidas en el mundo del 2010 al 2020 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2022a), debido a que es la tercera fuente de carbohidratos en la alimentación humana, después del trigo y el maíz (Liu *et al*., 2021). En el período 2022 al 2023 a nivel mundial se estimó un consumo per cápita de 53.0 kg/año (FAO, 2023) y una producción de 776.461.546 toneladas de arroz en granza, con un área cosechada de 165.038.826 ha (FAO, 2022a). En Costa Rica, para el período 2021-2022 se reportó la producción de 153.173 toneladas de arroz en granza y en 2022-2023 fue 102.989 tn arroz en granza, con un consumo per cápita de 50.27 kg/año y un área sembrada de 24.258 ha (Centro Estadístico Arrocero, 2021; Control Estadístico Arrocero, 2023). Por lo tanto, el arroz tiene un papel fundamental en los sistemas alimentarios actuales para la seguridad alimentaria en la escala mundial y nacional.

Uno de los aspectos claves para mantener el rendimiento en arroz es el uso de la fertilización (Taiz & Zeiger, 2010). En Costa Rica, la actividad arrocera se realiza en cinco regiones, por lo que se distribuye sobre una variedad de suelos con distintas condiciones físico-químicas, en los cuales se debe suplir las variadas deficiencias de nutrimentos con fertilización química mediante el uso de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S) y zinc (Zn) (Molina y Rodríguez, 2012). Esto representa entre un 28% a 29% de los costos de insumos empleados por hectárea para la producción del grano (Vargas y Gutiérrez, 2019). Junto a esto, se reconoce que las fuentes nitrogenadas tienen un papel central en los programas de fertilización para aumentar y mantener los rendimientos demandados por el mercado (Molina y Rodríguez, 2012; Mu & Chen, 2021).

Cabe destacar que el nitrógeno es el nutriente de mayor importancia para las plantas, por sus funciones estructurales en moléculas esenciales para el crecimiento y desarrollo, como los ácidos nucleicos, aminoácidos y pigmentos fotosintéticos (Taiz & Zeiger, 2010; Torres *et al*., 2018). En el cultivo del arroz, el aporte de nitrógeno permite una tasa fotosintética adecuada que suple los requerimientos energéticos para el crecimiento vegetativo y la producción de grano (Molina y Rodríguez, 2012). En consecuencia, las deficiencias del nutriente repercuten en un

crecimiento lento generalizado, a la vez que hay clorosis de las hojas lo que disminuye el área efectiva para la fotosíntesis y provoca un rendimiento menor al final del ciclo de cultivo (Torres *et al*., 2018).

En los años recientes la fertilización nitrogenada se ha utilizado en forma excesiva en la agricultura. Cárdenas-Navarro *et al*. (2004) indican que erróneamente se ha asociado que una mayor dosis de N resultará siempre en mayor rendimiento. Como resultado, a nivel global el uso de nitrógeno en la agricultura ha aumentado en 40.1% del 2000 al 2021, en particular para Costa Rica se reportan incrementos de 39.3% y sus importaciones en 66.4% (FAO, 2022b).

En el arroz, las prácticas inadecuadas en el uso de los fertilizantes como la aplicación sobre láminas de agua o en barro, facilita la pérdida del 60 al 80% en la eficiencia del nitrógeno (Acevedo *et al*., 2011). Alfonzo *et al*. (2011), demostraron que ante incrementos en la dosis nitrogenada se aumentó el porcentaje de pérdida del nitrógeno, hasta un 25% y 32% del nitrógeno aplicado, lo que indica que se agrega una cantidad adicional que no es aprovechable para las plantas, esto deriva en un uso mayor al necesario.

El uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados provoca repercusiones ambientales y económicas. Con relación a las consecuencias ambientales, se ha reportado la contaminación de mantos acuíferos debido a la lixiviación del nitrógeno que no es aprovechado. Otra afectación en los cuerpos de agua es mediante la escorrentía del exceso de nitrógeno que se aplica, esto genera eutrofización que lleva a eventos como las floraciones algales, perjudiciales para los ecosistemas marinos (Kant *et al*., 2018). También durante la aplicación del fertilizante hay volatilización de gases como el óxido nitroso (NO_2), gas que contribuye al efecto invernadero (Moharana & Dutta, 2016).

En el aspecto económico, las variaciones del precio de los fertilizantes generan vulnerabilidad en la seguridad alimentaria. Del 2020 a 2022 surgió un aumento sostenido de los precios de los fertilizantes. El valor para las fuentes de nitrógeno durante el año 2022 incrementó cuatro veces en comparación al 2020. Los factores que originaron este cambio abrupto fueron: los precios elevados y volátiles de la energía para su producción, el encarecimiento del transporte a nivel internacional producto de afectaciones en la cadena de suministros durante la pandemia del

COVID-19 y las políticas comerciales que restringieron exportaciones debido a conflictos internacionales (FAO, 2022c).

Como respuesta al alza de los precios, disminuyó la demanda y seguidamente la producción del insumo. Por ello, se reportó el encarecimiento de fertilizantes en el mercado, con afectación principalmente en los países en desarrollo (FAO, 2022c). Al 2024 algunos factores como la pandemia han disminuido su efecto y se han estabilizado a precios similares a períodos anteriores, sin embargo, aún continúan conflictos internacionales que amenazan la energía utilizadas para su producción y la comercialización de estos productos, por lo que los cambios en los precios potencialmente pueden subir en períodos cortos (Banco Mundial, 2023).

Con el fin de incentivar la disminución del consumo de nitrógeno, las alternativas abordan la búsqueda de microorganismos, mejoras en las prácticas de fertilización y el desarrollo de materiales genéticos más eficientes. El uso de microorganismos se centra en aquellos con capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico, bacterias como *Bradyrhizobium* spp. logran suplir N en cultivos de soya mediante la interacción simbiótica (FAO, 2020), en arroz por ejemplo se reportan organismos como *Nostoc* spp. (Álvarez *et al*., 2020) y *Azolla* spp. (Adhikari *et al*., 2021). En el manejo de fertilización, se utilizan fuentes de lenta liberación y herramientas de agricultura de precisión (Liu *et al*., 2021). Por otra parte, existe una búsqueda de materiales genéticos con mayor eficiencia en el uso de nitrógeno, que mantengan un rendimiento competitivo en diversos tipos de cultivos, como trigo, maíz, papa y hortalizas (Lammerts & Struik, 2017), esto debería ser una prioridad en el cultivo del arroz.

Una de las herramientas para obtener materiales genéticos de arroz con características deseables es la inducción de mutaciones. En específico, el uso de agente físicos como las radiaciones ionizantes que aumentan la tasa natural de mutaciones (Organización Internacional de Energía Atómica [OIEA], 2018). Esta técnica permite desarrollar materiales con respuestas favorables a características como resistencia a estrés biótico, abiótico, mejora de rendimiento, por lo que es un medio potencial para desarrollar líneas de mayor eficiencia en uso de nitrógeno en el arroz.

En Costa Rica, las variedades de arroz disponibles tienen una absorción de N entre los 65 a 96 kg N/ha (Bertsch, 2003) con rendimientos promedios de 4.2 a 4.5 ton/ha (Control Estadístico

Arrocero, 2023) lo cual es un valor bajo en comparación a otros países, sin embargo, las recomendaciones de fertilización nitrogenada pueden aumentar desde los 100 a 200 kg de N de nitrógeno/ha (Molina y Rodríguez, 2012, Arias-Badilla *et al*., 2020). No se ha reportado información sobre materiales genéticos con eficiencia en el uso de nitrógeno en el país, por esto la disponibilidad de materiales eficientes en asimilación de nitrógeno contribuiría a la reducción de la cantidad de fertilizante nitrogenado aplicado, junto a ello la disminución de las repercusiones negativas ambientales y los costos productivos, asimismo mantener o aumentar los rendimientos del cultivo (Gómez *et al*., 2017).

Debido a que en Costa Rica no se han desarrollado líneas de arroz para producción con baja fertilización nitrogenada, el programa de Biotecnología Vegetal y Recursos Genéticos para el Fitomejoramiento (BIOVERFI) de la Universidad Nacional, ha explorado la generación de líneas de arroz mediante irradiación gamma para obtener mutantes potenciales para problemáticas nacionales en el cultivo del arroz, como la salinidad, la sequía y, de particular importancia, el uso del nitrógeno.

El programa a partir de pruebas preliminares ha seleccionado materiales genéticos promisorios con respuesta para la producción con baja fertilización nitrogenada a nivel de invernadero. Por lo tanto, el presente trabajo pretende abordar la evaluación de los materiales en quinta generación (M5) para seleccionarlos según la respuesta ante una dosis baja de fertilizante nitrogenado, basándose en el comportamiento de los parámetros morfológicos, fisiológicos y de rendimiento de las líneas en condiciones de campo.

2. OBJETIVOS

2. 1. Objetivo general

Evaluar líneas mutantes de arroz utilizando variables morfológicas, fisiológicas y de rendimiento para la selección de líneas con respuesta diferenciada a baja fertilización nitrogenada.

2. 2. Objetivos específicos

1. Determinar el comportamiento de tres líneas mutantes de arroz utilizando variables morfológicas, fisiológicas y de rendimiento con dos dosis de fertilización nitrogenada.
2. Seleccionar las líneas mutantes de arroz según el resultado diferencial en las variables evaluadas a una baja dosis de nitrógeno.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Cultivo del Arroz en Costa Rica

El cultivo de arroz en Costa Rica se encuentra en cinco regiones socioeconómicas: Chorotega, Pacífico Central, Huetar Norte, Huetar Atlántico y Brunca. Se ha presentado una disminución en el área sembrada, por lo que para el período 2018-2019 se reportó una superficie de 36.979 ha sembradas, mientras en el 2022-2023 el área con siembra correspondía a 24.258 ha, con una disminución porcentual del 34.4% en cinco años. En el período 2022-2023 el área sembrada se distribuyó por región socioeconómica en: 54% región Chorotega, 17% Brunca, 14% región Pacífico Central, 13% en Huetar Norte y 2% en Huetar Caribe (Control Estadístico Arrocero, 2023).

En el país hay dos sistemas de siembra: secano, con un 57% de las producciones, y riego, con un 43% del área bajo siembra. El sistema de secano se utiliza principalmente en la región Pacífico Central y Brunca, mientras la Chorotega emplean mayormente riego (Control Estadístico Arrocero, 2023).

Entre las variedades de arroz empleados al 2023 se reportan 21 variedades, es predominante el Lazarroz FL representando un 28% de las áreas sembradas, luego SEN1/Esperanza FL con 18% y Senumisa FL 20 y Puita INTA con un 16% cada una, estas tres últimas empleadas en todas las regiones. Las restantes 17 variedades se siembran en el 22.9% del área utilizada, distribuido en las regiones productoras (Control Estadístico Arrocero, 2023).

En la región Chorotega, el ciclo del cultivo es de aproximadamente 120 días (Figura 1). Este se distingue por dos áreas productoras, en secano y con riego, las últimas se encuentran dentro del Distrito de Riego Arenal-Tempisque (DRAT) (Vignola *et al*., 2018). La disponibilidad de agua marca las dos distintas épocas de siembra, en el caso del secano se realiza solo una al año.

Figura 1

Ciclo fenológico del cultivo del arroz en la región Chorotega

*	0	7 DDS	30 DDS	65 DDS	85 DDS	95 DDS	120 DDS
Fases		Germinación y emergencia	Macollamiento	Diferenciación de primordio	Floración	Maduración	
**	S0	S3	V4	V9	R0	R4	R6	R8
Época	Época lluviosa (Invierno)						
I Siembra Meses (Riego)	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	
Época	Época seca (verano)						
II Siembra Meses (secano)	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	

*DDS: Días después de la siembra.
** Sistema de clasificación de fases de desarrollo del arroz propuesto por Counce *et al*., (2000) para describir el crecimiento y desarrollo del cultivo, el cual está dividido en tres grandes fases: germinación, vegetativa y reproductiva. Se enmarcaron las fases fenológicas definidas en el presente estudio de acuerdo con las fases definidas por Counce *et al*., (2000), donde germinación y emergencia va de S0 a S3, macollamiento va de V4 a V9, diferenciación de primordio va de R0 a R3, floración es R4 y maduración va de R6 a R8

Fuente: Vignola *et al*., 2018.

3.2. Nitrógeno en el suelo

El nitrógeno es un elemento que forma parte esencial del desarrollo de organismos vivos. Se encuentra principalmente en la atmósfera como gas (N_2) siendo este la principal reserva de N. La incorporación del N atmosférico al suelo se realiza mediante el metabolismo de bacterias fijadoras de nitrógeno en forma de amoniaco (NH_3), luego bacterias nitrificantes como la *Nitrosomas* sp. oxidan el ión amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-), y seguidamente las *Nitrobacter* sp. transforman por oxidación los nitritos a nitratos (NO_3^-) (Taiz & Zeiger, 2010). Debido a esta actividad, las formas de N disponibles en el suelo son iones de amonio y nitratos.

3.3. Nitrógeno en las plantas de arroz

El nitrógeno es el macronutrimento de mayor importancia para las plantas (Torres *et al*., 2018) porque es indispensable para el desarrollo y se requiere en grandes cantidades, por lo que se encuentra entre un 2 a 5% de la materia seca de las plantas (Taiz & Zeiger, 2010; Torres *et al*., 2018). La función bioquímica es principalmente estructural para la composición de moléculas esenciales como aminoácidos, ácidos nucleicos, paredes celulares, membranas y en pigmentos

fotosintéticos como la clorofila (Taiz & Zeiger, 2010; Mu & Chen, 2021). Además, en el proceso de asimilación de NO_3^- y NH_4^+, al consumir y producir protones, aporta al equilibrio de pH en el interior de la célula, que es fundamental para el intercambio de otros iones a través de las membranas (Feng *et al*., 2020).

En las hojas de las plantas C3, como el arroz, se ha reportado la distribución del N con un 75% en cloroplastos, seguido de las mitocondrias en 5% y 10% en las paredes celulares, el restante se divide en otras organelas en el citosol (Mu & Chen, 2021). Dentro del cloroplasto se asigna una cuarta parte a la conformación de los tilacoides, los cuales dirigen la mayoría del nutrimento para la producción de proteínas de captura de luz en los fotosistemas I y II (Mu & Chen, 2021). Además, el N es componente de la clorofila, que es un pigmento especializado en la absorción de luz. Estos elementos descritos participan activamente en la fase lumínica de la fotosíntesis, donde se generan las moléculas de ATP y NADHP que son la fuente de energía para procesos metabólicos. Se ha reportado una relación directa entre la fotosíntesis y el contenido de clorofila, que a su vez se asocia con el aporte de N, por esta razón se evidencia la importancia del nutrimento en el metabolismo de la planta (Taiz & Zeiger, 2010).

En el cultivo del arroz, el aporte adecuado de nitrógeno propicia una tasa fotosintética que permite un óptimo crecimiento vegetativo y el rendimiento en grano (Torres *et al*., 2018). Con mayor disponibilidad de N, se incrementa la biomasa como resultado del aumento de los crecimientos secundarios, conocidos como macollas. Cabe destacar que el número de macollas es relevante por la cantidad de panículas que pueden aportar para la producción (Wang *et al*., 2017). En algunas variedades existe una diferencia significativa en el rendimiento de las macollas más tardíos respecto a las tempranas, esta diferencia se reduce con una fertilización alta en nitrógeno, lo que muestra la influencia del nutriente tanto en el crecimiento vegetativo como en el llenado de grano (Wang *et al*., 2017).

Otra característica del N, es la capacidad de movilidad dentro de la planta, esto permite que los compuestos nitrogenados de las hojas más viejas se reciclen y se transloquen hacia las hojas más jóvenes y las zonas de crecimiento. Por lo anterior, en condiciones de deficiencia de N el rasgo más evidente es la clorosis de las hojas viejas, es decir, cambian su coloración hacia amarillo y pueden llegar a caer de la planta (Taiz & Zeiger, 2010). Junto a esto, las deficiencias del nutriente

repercuten en un crecimiento lento, debido a que provoca la disminución de contenidos energéticos, proteínas de captura de luz, las paredes celulares y la enzima rubisco, que se encarga de regular el inicio de la fotosíntesis (Mu & Chen, 2021). En general, se disminuye el rendimiento de la planta, afectando algunos componentes como la cantidad de panículas por planta y el peso de 1000 granos (Xiong *et al*., 2018).

3.4. Mecanismos de absorción y asimilación de nitrógeno

Las raíces son la vía de absorción del nutrimento, estas absorben el N en forma de iones de NH_4^+ y NO_3^-, según la disponibilidad en el suelo (Torres *et al*., 2018). Los iones de N estarán disponibles para absorción según la capacidad de intercambio catiónico del suelo, esto refiere a la capacidad de adsorción de iones catiónicos en las partículas del suelo. En el caso del nitrato, al poseer una carga negativa, se repele de las cargas también negativas de las partículas y se encontrará disuelto en la solución, lo que facilita su absorción (Taiz & Zeiger, 2010).

La absorción de estas dos formas de nitrógeno está asociadas a la absorción de otros nutrimentos como el potasio (K^+), cloro (Cl^-) e hidrógeno (H^+). Debido a las cargas de los iones, se observan interacciones de antagonismo como K^+ y NH_4^+ o de cooperación, por ejemplo entre K^+ y NO_3^-, dado que el NO_3^- requiere la interacción con el ión para su transporte desde las raíces hasta los tallos (Torres *et al*., 2018).

Respecto al nitrato, la absorción se da mediante canales transportadores específicos. Luego se transporta por canales iónicos simportes junto a H^+ desde el citosol al interior de las vacuolas, aprovechando un gradiente protónico generado por bombas ATP-asas, por lo que consume energía para su asimilación (Torres *et al*., 2018). Las plantas pueden trasladar el ión de una célula a otra sin causar daños, por esto se asimila en células de la raíz y, cuando hay mayor disponibilidad de N, en las células del tallo (Taiz & Zeiger, 2010). Para su aprovechamiento el nitrato se reduce a la forma de amonio en dos etapas, primero en el citosol mediante las enzimas nitrato reductasa se reduce a nitrito (NO_2^-), seguidamente se reduce el nitrito a amonio por la enzima nitrito reductasa, esto ocurre dentro de los plastidios de la raíz y los cloroplastos del tallo (Feng *et al*., 2020).

Por otra parte, el NH_4^+ se absorbe por un sistema uniporte en forma pasiva (Torres *et al*., 2018). El ión amonio es una fuente de N que consume menor energía en comparación con la

asimilación del nitrato, lo cual es importante en células que consumen mayor energía en la división celular y tienen limitaciones en la generación de carbohidratos como las células de las raíces (Taiz & Zeiger, 2010). La absorción de NH_4^+ varía según las condiciones externas de pH, con un pH alto se facilita la entrada del ión a la célula (Feng *et al*., 2020).

Debido a que la acumulación de NH_4^+ dentro de la célula es dañina, la mayoría se transforma rápidamente en aminoácidos dentro de las células de las raíces y se dirigen a los sitios de acción, por otra parte, el exceso se almacena en las vacuolas. (Feng *et al*., 2020)

En cuanto a la asimilación de NH_4^+ en aminoácidos, primero la enzima glutamina sintetasa facilita la reacción entre el amonio y el glutamato para formar el aminoácido glutamina, considerado precursor de otros aminoácidos. Posteriormente, la enzima glutamato sintetasa se activa por la alta concentración de glutamina y los grupos amidas del aminoácido se transfieren a un 2-oxoglutarato para formar de nuevo dos moléculas de glutamato. La síntesis de los distintos aminoácidos se obtiene por enzimas aminotransferasas que movilizan los grupos aminos desde la glutamina y el glutamato (Taiz & Zeiger, 2010).

En las plantas, los requerimientos de los nutrientes cambian según las etapas fisiológicas (Mu & Chen, 2021). En el cultivo de arroz, la absorción del nitrógeno en las etapas iniciales es alto y creciente hasta los 50-70 días, que corresponde al momento de mayor demanda del nutrimento. En los días posteriores hasta la cosecha la necesidad de nitrógeno disminuye y se estabiliza (Bertsch, 2003).

En cuanto a su distribución, previo al pico de demanda de N la mayor parte del nutrimento se dirige a la parte aérea, pasado este período hay una disminución del N empleado en follaje e inicia la transición hacia la formación del grano (Bertsch, 2003). En la etapa reproductiva se movilizan los nutrientes ya asimilados para la producción de los órganos reproductivos, por lo que la necesidad de N exterior disminuye (Mu & Chen, 2021), sin embargo, la etapa de llenado de grano en arroz representa entre el 28% al 40% del nitrógeno total consumido por la planta (Bertsch, 2003).

3.5. Métodos no destructivos para estimar el estado de nitrógeno en plantas

3.5.1. Contenido de clorofila y la relación con el estado de nitrógeno

El medidor de clorofila (soil plant analysis development [SPAD], siglas en inglés) se ha utilizado como método para estimar en forma indirecta el estado de nitrógeno en las plantas (Yang *et al*., 2014; Wang *et al*., 2022). El instrumento reporta el contenido de clorofila en la hoja mediante la lectura de la diferencia entre la transmitancia de la banda de luz roja (650 nm) y luz infrarroja (940 nm) (Yuan *et al*., 2016). Este es un método no destructivo, que brinda información en menor tiempo respecto al muestreo directo de concentración de N en follaje (Yang *et al*., 2014).

Los distintos estudios correlacionan dos tipos de datos: las lecturas directas del instrumento y el índice de SPAD. Este último reporta el valor del contenido de clorofila como un porcentaje respecto a la lectura de las plantas con la fertilización nitrogenada adecuada. Sobre este tema, Yue *et al*. (2020) reportan que las correlaciones entre las lecturas directas del instrumento con la concentración y acumulación N en la planta son positivas y con un alto coeficiente de correlación; mientras el índice de SPAD muestra correlaciones bajas, por ello la lectura directa es mejor estimador del estado de nutrición.

Adicionalmente, Yang *et al*. (2014) reportaron que en arroz las hojas bajas son más sensibles a los cambios en el nivel de nitrógeno respecto a las más altas, debido a la translocación de los nutrientes de los tejidos viejos a los nuevos. Se ha determinado que la cuarta hoja de arriba hacia abajo en una planta de arroz brinda valores que representan mejor el comportamiento del nitrógeno dentro de la planta.

Los valores del SPAD reportados en el cultivo de arroz varían entre 22 a 54, según la variedad y la dosis, siendo en general mayores las lecturas con los tratamientos de mayor fertilización nitrogenada. En el tiempo, para todas las dosis se mostró que las magnitudes más altas se encuentran en las etapas iniciales entre los 10 a 70 días, luego los valores del contenido de clorofila descienden (Yang *et al*., 2014).

Las lecturas del SPAD pueden variar por factores como el estado de fenológico de la planta, variedad del cultivo, el agua disponible y la deficiencia de nutrientes distintos al N (Yue *et al*., 2020; Wang *et al*., 2022), por lo que es relevante homogeneizar estas condiciones al recolectar los datos, a la vez, que se deben considerar comparaciones en condiciones equivalentes.

3.5.2. Imágenes multiespectrales e índices de vegetación

Las imágenes multiespectrales corresponden al registro de las longitudes de onda que son reflejadas por una superficie específica en ciertas condiciones. Las longitudes de onda que son capturadas principalmente para estudios son banda roja (660 nm), verde (550 nm), infrarrojo cercano (790 nm) y borde rojo (690 a 730 nm) (Saavedra *et al*., 2018).

Es posible la observación del estado de nitrógeno en la planta a través de una imagen espectral, dado que el nitrógeno influye en el contenido de clorofila y este a su vez modifica la capacidad de reflectancia y absorbancia en la hoja (Wang *et al*., 2022). Por mencionar, en el caso de niveles altos de N, el aumento en el contenido de clorofila permite mayor absorción, ante esto la reflectancia de las bandas rojas, azules y verdes decrece, a la vez que la turgencia y aumento del grosor de las plantas provocan una mayor reflectancia de la banda infrarrojo cercano (Wang *et al*., 2022).

Los índices de vegetación son parámetros creados a partir del procesamiento de imágenes multiespectrales que pueden brindar información sobre el estado de las plantas en cuanto a vigor, cobertura y crecimiento en un sitio determinado (Cardim *et al*., 2020). Este método ofrece una ventaja al facilitar el estudio de cambios morfológicos y fisiológicos de cultivos en una forma no destructiva y en menor tiempo de recolección, lo que permite un seguimiento detallado de los cambios de las plantas (Wang *et al*., 2022).

Se ha estudiado la relación entre los índices de vegetación y el estado de fertilización de las plantas en cultivos como tomate (Cardim *et al*., 2020), papa, algodón, trigo, maíz y arroz (Bagheri *et al*., 2013). Los estudios se han basado en la generación de índices relacionados al estado del nitrógeno en cada cultivo, para ello emplean como referencia valores obtenidos del SPAD y lo correlacionan con los índices obtenidos de las imágenes. Generalmente, esta correlación puede variar según el cultivo, la variedad y el estado fenológico de la planta. Las conclusiones de estas investigaciones permiten obtener una imagen en tiempo real del estado del cultivo, que se emplea como insumo para la planificación de la fertilización según las deficiencias en zonas particulares (Bagheri *et al*., 2013; Yang *et al*., 2014, Guan *et al*., 2019), lo cual es fundamental en la agricultura de precisión.

Los índices de vegetación utilizados para el estudio de nitrógeno emplean parámetros que estiman el contenido de clorofila. Se han reportado hasta 15 índices de vegetación (Cardim *et al*., 2020), de los cuales los más frecuentes en arroz son los que utilizan la banda del borde rojo y el infrarrojo cercano como el índice de clorofila en el borde rojo, índice normalizado rojo cercano borde rojo (VNIRE) y el índice de clorofila en hoja (CI_{RE}) (Wang *et al*., 2021), con estos se ha reportado una alta correlación con los contenidos de nitrógeno en hoja.

Además, un índice de uso general es el índice Normalizado de Vegetación Diferenciada (NDVI), porque se emplea para diferenciar las superficies según la presencia o ausencia de cubierta vegetal basado en la absorbancia de la banda roja y la reflectancia de la banda del infrarrojo cercano (Kharuf-Gutiérrez *et al*., 2018). El rango del índice es entre -1 a 1, siendo que los valores cercanos a 1 indican presencia de cubierta vegetal (Kharuf-Gutiérrez *et al*., 2018).

También, aunque en menor frecuencia se reportan índices generados a partir de las bandas verdes del espectro visible, como el índice de vegetación de diferencia normalizada verde (GNDVI) y índice de vegetación verde (GVI), que se reporta que son más sensibles a contenido de clorofila. Ambos son buenos predictores del estado de nitrógeno en cultivos como tomate en etapas iniciales (Cardim *et al*., 2020), además indica el estado de la actividad fotosintética relacionada a la absorción de nitrógeno en las hojas (Kharuf-Gutiérrez *et al*., 2018).

3.6. Mejoramiento genético por inducción de mutaciones

El mejoramiento genético es una herramienta con gran utilidad para la búsqueda de cultivos con características deseables. Esta se basa en métodos como la selección de individuos, hibridización, variación somaclonal y la inducción de mutaciones (Hernández-Soto *et al*., 2021).

La inducción de mutaciones se puede realizar mediante métodos químicos o físicos, dentro de los métodos físicos se encuentra la radiación ionizante. Esta consiste en emplear una fuente de radiación para generar alteraciones a nivel del material genético, sea ADN o cromosomas, por lo que promueve el aumento de la tasa de mutación natural y permite transmitir la información a los descendientes (OIEA, 2018). El agente mutagénico más empleado dentro de los métodos físicos es la radiación gamma, obtenida mediante el isótopo de Cobalto 60 (^{60}Co) (OIEA, s.f.).

Respecto a la radiación gamma, el proceso implica primero seleccionar un material con cualidades favorables pero que no presente las características óptimas para una condición de interés en particular (Argüello *et al*., 2021). Luego, las semillas o plántulas se exponen a la radiación por un período determinado para inducir los cambios a nivel genético. Posteriormente, los individuos irradiados generarán una progenie, de la cual se seleccionan aquellos que bajo condiciones específicas presentan un mejor comportamiento de las características deseadas (OIEA, 2018).

El arroz es el cultivo con mayor registro de inducción de mutaciones a nivel mundial, con 873 registros desde 1957 al 2022, siendo un 53% obtenidas por inducción directa del material (OIEA, 2022). En el caso de Costa Rica, solo se ha generado una variedad comercial de arroz a partir de la técnica de radiación gamma que se registró en 1996, llamada Camago-8, esta variedad fue seleccionada por la resistencia a *Pyricularia grisea* y la calidad molinera (Argüello *et al*., 2021).

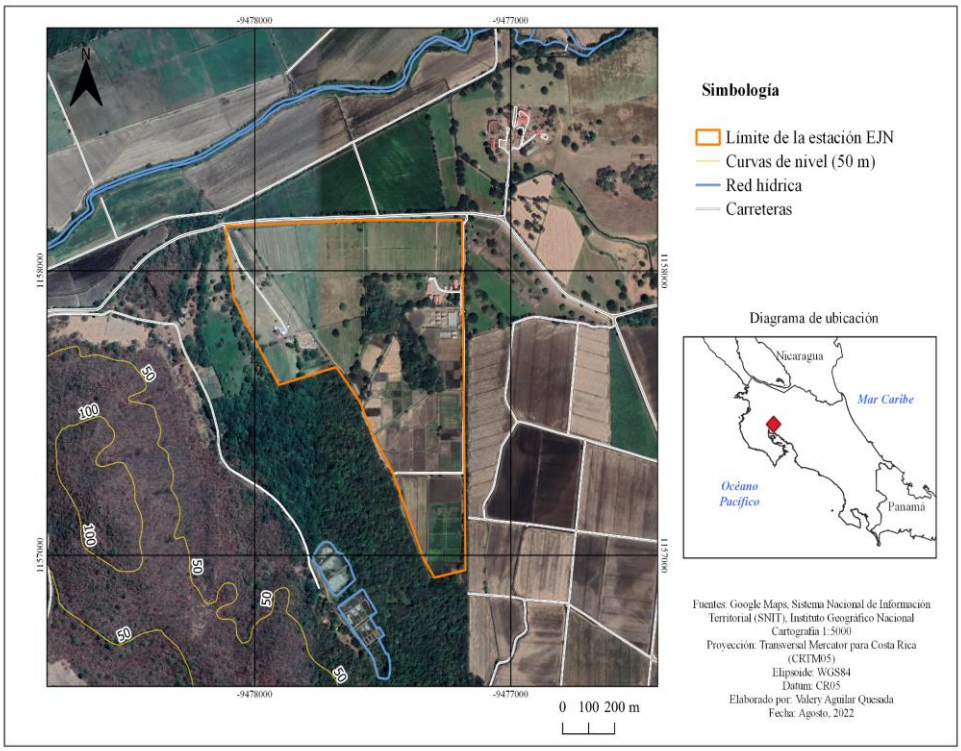
4. MARCO METODOLÓGICO

4.1. Sitio del estudio

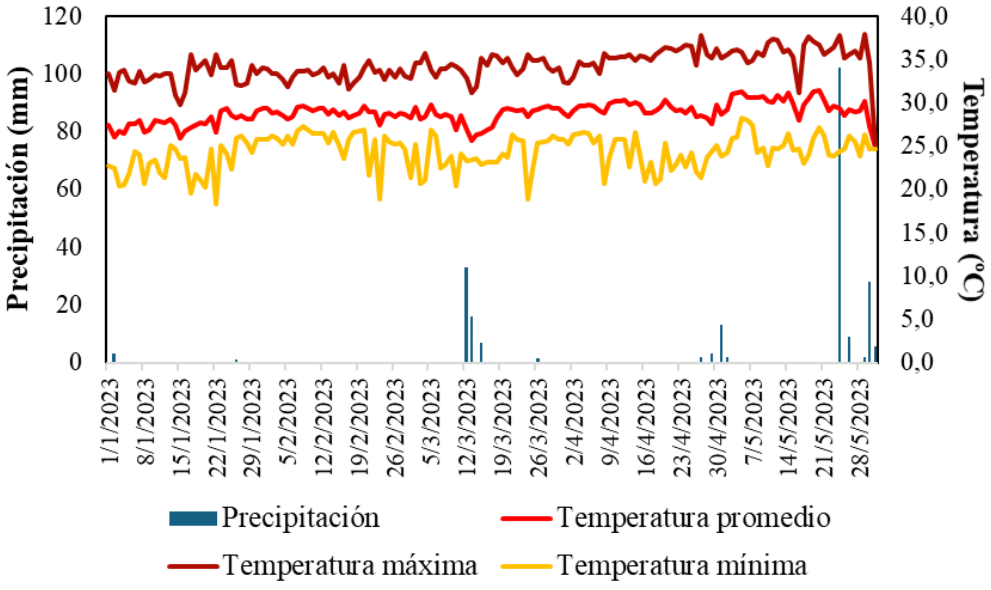
El estudio se realizó en la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez del Instituto de Transferencia y Tecnología Agropecuaria (INTA), ubicada en Cañas, Guanacaste (Figura 2). La ubicación del sitio es 10.345516 latitud norte, -85.135183 longitud oeste. El período de estudio se distribuyó desde enero hasta mediados de mayo del 2023, con un sistema de producción bajo riego del Distrito de Riego Arenal-Tempisque (DRAT).

Figura 2

Ubicación de la Estación Experimental Enrique Jiménez Núñez, Cañas, Guanacaste (a) y climograma diario de la zona de estudio (b).



a)



b)

Durante el período de estudio, se registraron 10 días con precipitación (Figura 2.b), con un valor promedio de 8,15 mm/día, en el resto del período la precipitación fue nula. La temperatura diaria promedio fue de 28,8 ºC, con temperatura máxima y mínima diaria promedio de 34,3 ºC y 28,3 ºC, respectivamente.

La altitud del sitio es de 50 m.s.n.m. y el suelo predominante de la zona es el vertisol, clasificado taxonómicamente como *Typic Haplusterts*. La parcela utilizada presenta condiciones de pendiente del 1% y una buena fertilidad, debido a que tiene contenido de calcio (Ca), magnesio (Mg) y potasio (K) adecuados, pH con valor medio y el fósforo (P) es alto (Tabla 1).

Tabla 1

Análisis de suelo del lote del sitio de estudio

pH	Acidez	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn	CE	C	N	C/N
-	cmol(+)/L					%	mg/L					mS/cm	%		-
Valores de referencia															
5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5	1,5		-	-
6,7	0,5	24,15	10,85	0,93	36,05	0,3	36	4,6	27	154	255	0,2	2,72	0,27	10,1

4.2. Material genético

Se emplearon tres líneas de arroz mutantes (*O. sativa* L.) obtenidas por la irradiación a semillas de la variedad CR5272 con ^{60}Co, a una dosis de 300 Gy (^{60}Co). Estos materiales corresponden a una quinta generación (M5) de individuos seleccionados según su eficiencia en asimilación de nitrógeno, a un 40% de la dosis nitrogenada. Las semillas fueron facilitadas por el programa BIOVERFI de la Universidad Nacional. Las líneas evaluadas corresponden a: UNA-1182, UNA-1188, UNA-1199. Además, se utilizó la variedad de arroz comercial de CR5272 como testigo.

4.3. Tratamientos

El diseño fue bifactorial, el cual consideró el primer factor como la línea de arroz mutante. Este tuvo cuatro niveles en total, considera las tres líneas seleccionadas y la variedad CR5272. El segundo factor fue la dosis de nitrógeno, que consistió en dos niveles: una dosis al 100% que representa 200 kg N/ha y la segunda al 40% con 80 kg N/ ha. El diseño experimental fue completamente al azar (DCA), con ocho tratamientos (Tabla 2) y cuatro repeticiones por tratamiento.

Tabla 2

Tratamientos según material genético y dosis de nitrógeno

Tratamiento	Material genético	Dosis de nitrógeno
1	CR5272	200 kg/ha (100%)
2	UNA-1182	
3	UNA-1188	
4	UNA-1199	
5	CR5272	80 kg/ha (40%)
6	UNA-1182	
7	UNA-1188	
8	UNA-1199	

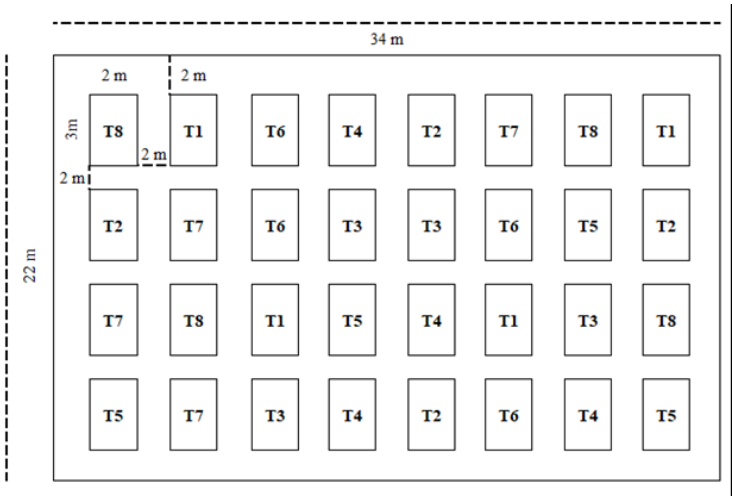
4.4. Diseño del área experimental

La unidad experimental (UE) se representó por una microparcela con un tratamiento de material genético y dosis. La microparcela tuvo un área de $6m^2$, con dimensiones de 2m x 3m y un

espaciamiento de 2 m entre ellas. Se utilizaron un total de 32 UE, para un área total de 640 m^2, con 20 m de ancho y 32 m de largo (Figura 3).

Figura 3

Distribución y dimensiones de las unidades experimentales, con los ocho tratamientos y cuatro repeticiones



Tratamientos	
T1	Testigo 100% N
T2	UNA-1182 100% N
T3	UNA-1188 100% N
T4	UNA-1199 100% N
T5	Testigo 40% N
T6	UNA-1182 40% N
T7	UNA-1188 40% N
T8	UNA-1199 40% N

4.5. Preparación del terreno

Una semana previa a la siembra, el suelo se mecanizó con el propósito de generar condiciones óptimas para el desarrollo de las raíces. Inicialmente, se hizo un pase de rastra superficial (menor a 20 cm), con el fin de eliminar las arvenses y terrones en la parcela. Seguidamente, se utilizó un segundo pase de rastra en la dirección contraria al terreno, para mejorar la estructura del suelo.

Luego se realizaron los canales de desagüe a una profundidad de 30 cm, con muros de contención a 30 cm de altura, para manejar el agua y permitir liberar los excesos cuando sea necesario. Posterior a este proceso, se realizó la nivelación con maquinaria mediante láser y el rayado del terreno, con espaciamiento cada 20 cm.

Por último, la delimitación de las microparcelas se realizó un día previo a la siembra, con el uso de estacas de madera y piola para el marcaje de las dimensiones y posición correcta de las UE dentro de la parcela.

4.6. Siembra

Se realizaron pruebas de germinación para los cuatro materiales de arroz, se empleó de referencia el valor de germinación menor para calcular la cantidad de semilla por microparcela para mantener una siembra de 90 kg de semilla por hectárea. Se determinó que basados en un 77% de germinación se usaron 70 g de semilla por microparcela.

El método de siembra fue directo, se agregó la semilla a los surcos generados por el rayado a lo largo de la microparcela, a una distancia entre surcos de 20 cm. Se realizó un primer riego para promover la germinación.

4.7. Fertilización

La fertilización nitrogenada (dosis al 100%), de fósforo y potasio aplicado empleó como referencia el plan utilizado en la estación experimental EJN para el cultivo del arroz.

- **Nitrógeno**

La fuente de nitrógeno fue urea (46% de N), la cual se fraccionó en tres aplicaciones a los 15, 35 y 55 días después de la germinación (ddg). La distribución porcentual del fertilizante fue de 28%, 32% y 40% de la dosis, en el orden respectivo (Tabla 3). En el caso de la dosis al 40% de N, con una aplicación inicial de 10-30-10 en la siembra como fuente de P y K, se cubrió el requerimiento del 28% de la dosis.

Tabla 3

Aplicación de urea (46%) según fraccionamiento, momento de aplicación y dosis de N

	Dosis de Urea (g/ parcela de 6m^2)		
	Fraccionamiento (%)		
Material genético	**28**	**32**	**40**
	Días de aplicación (ddg)		
	15	**35**	**55**

	Dosis de N (%)					
	100	**40**	**100**	**40**	**100**	**40**
CR5272	46,0	0	83,5	33,5	104,5	41,7
UNA-1182	46,0	0	83,5	33,5	104,5	41,7
UNA-1188	46,0	0	83,5	33,5	104,5	41,7
UNA-1199	46,0	0	83,5	33,5	104,5	41,7

- **Fósforo**

Se utilizó la fórmula física 10-30-10 (30% P_2O_5) como fuente de fósforo . La dosis empleada en la EEJN es de 29,47 kg de P por hectárea, que corresponde a 67,5 kg de P_2O_5/ha. Se aplicó en los ochos tratamientos en el momento de siembra, con una dosis de 6,75 g P_2O_5/m^2, para un total de 135 g 10-30-10 por parcela de 6 m^2.

- **Potasio**

La fuente de potasio fue la fórmula fertilizante 10-30-10 (10% K_2O) y cloruro de potasio (KCl, 60% K_2O). La dosis empleada fue de 66,9 kg K/ ha, para una dosis de 81 kg de K_2O/ha. La aplicación se realizó a todas las UE de los ocho tratamientos, en dos etapas: 28% en el momento de la siembra con el 10-30-10 (135g/UE, utilizado como fuente de fósforo) y 72% entre los 35 a 50 días con KCl, que corresponde a 58,5 g KCl/ UE.

4.8. Variables a evaluadas

4.8.1. Variables morfológicas

La medición de las variables morfológicas siguió los protocolos del Sistema de Evaluación Estándar de Arroz (SEEA) propuesto por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (1983) y fueron las siguientes:

Altura (Ht): Se midió la longitud de cinco plantas por UE desde el nivel del suelo hasta el final de la panícula más alta de la planta, sin considerar las aristas. Se utilizó una cinta métrica y se reportó el dato en unidad de centímetros en números enteros. Esta medición se realizó en el momento de floración (entre los 85 a 90 ddg).

Habilidad de macollamiento (Ti): Se contó la cantidad de macollas totales por planta en el momento de floración de cada línea, se utilizó un promedio de cinco plantas por microparcela.

4.8.2. Variables fisiológicas

Contenido de clorofila: se estimó la concentración de clorofila de la hoja más alta en cinco plantas al azar por microparcela con el uso de un medidor de clorofila Konica Minolta SPAD-502. La lectura de concentración de clorofila se realizó en períodos posteriores a cada aplicación de nitrógeno, que corresponde a los 29, 43 y 64 ddg.

Índices de vegetación: se realizaron tres vuelos con una unidad no tripulada DIJ Mavic Pro 2 equipada con la cámara multiespectral Mapir Survey 3 que registra las bandas roja (R), verde (G) e infrarrojo cercano (NIR). Se capturaron las fotografías a los 29, 43 y 64 ddg entre las 10:00 am y 12:00 pm, a 25 m de altura y una velocidad de vuelo de 2 m/s.

Las imágenes multiespectrales se procesaron en el software AgiSoft PhotoScan Professional v.1.4 para obtener el ortomosaico por cada vuelo. Posteriormente, el cálculo de los índices de vegetación se realizó en el software QGIS v.3.28.9, donde se combinaron las bandas espectrales según la fórmula (Tabla 4). Se aplicó el NDVI para discriminar las zonas con presencia de cobertura vegetal y omitir el efecto del suelo. En el primer vuelo se aplicó un valor umbral de NDVI para discriminar las superficies no fotosintéticas de -0.01 y en los vuelos restantes el umbral fue de cero.

Tabla 4

Combinación de bandas espectrales para los índices de vegetación

Índice de vegetación	Fórmula

Índice Normalizado de Vegetación Diferenciada (NDVI)	$\frac{NIR - R}{NIR + R}$
Índice de vegetación rojo (RVI)	$\frac{NIR}{R}$
Índice de vegetación de diferencia normalizada verde (GNDVI)	$\frac{NIR - G}{NIR + G}$
Índice de vegetación verde (GVI)	$\frac{NIR}{G}$
Índice Verde de Clorofila (CIg)	$\frac{NIR}{G} - 1$

Nota: Abreviatura de bandas espectrales: R: roja; G: verde; NIR: infrarrojo cercano

Duración etapas fenológicas: se registró la cantidad de días desde el establecimiento desde la siembra hasta el inicio de cada etapa.

- **Floración (Fl):** Se registró el número de días desde la siembra hasta la floración de cada material, considerando que al menos 50% de la microparcela presentara espigas.
- **Cosecha (maduración, Mat):** Se registró el número de días desde la siembra hasta que el 90% de la microparcela presentó granos maduros.

4.8.3. Variables de rendimiento

Rendimiento (Yld): El material se cosechó en forma manual cuando el material presentó al menos 90% de los granos maduros. Se reportó el rendimiento de cada material genético en la totalidad de la microparcela. Se pesó el grano en cáscara con una humedad del 14%. El dato se reportó en unidades de kilogramos por hectárea (kg/ha), con un ajuste de un 10% de incremento debido a la técnica de cosecha en forma manual.

Componentes del rendimiento

Biomasa: en el momento de la cosecha, se cortaron cinco plantas al azar dentro de la microparcela a 5 cm del nivel del suelo y se secaron en horno a temperatura de 60 ºC durante 48 h hasta obtener peso constante. Se reportó el valor de biomasa en gramos por planta.

Longitud de panícula (PnL): Se midió la longitud desde el nudo ciliar hasta el ápice de la panícula en cinco plantas al azar de cada microparcela. Se reportó la longitud en centímetros.

Esterilidad: se seleccionó una muestra al azar de 100 granos por microparcela, se contaron granos llenos y granos vanos por muestra, luego se calculó el porcentaje de esterilidad mediante la siguiente fórmula:

$$\%\ esterilidad = \left(\frac{granos\ vanos}{granos\ totales}\right) \times 100$$

Peso 100 granos (GW): Se registró el peso de 100 granos llenos, con cuatro réplicas por microparcela.

4.9. Análisis de datos

Los resultados de las variables se estudiaron mediante un análisis de varianza de dos factores (ANDEVA), para comparar el efecto del material genético y la dosis de fertilizante, junto a la interacción entre ellos, según el modelo matemático a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + l_i + f_j + (l_i \times f_j) + \varepsilon_{ijk};\ i = 1,\ldots,4;\ j = 1,2;\ k = 1,\ldots,4$$

Donde:

Y_{ij}: valor de variable respuesta en el material i-ésimo con la j-ésima dosis de fertilizante.

μ: valor de la media general.

l_i: efecto medio del i-ésimo material genético.

f_j: efecto medio de la j-ésima dosis de fertilizante.

$l_i \times f_j$: efecto medio producido por el i-ésimo material genético y la j-ésimo dosis de fertilizante.

ε_{ijk}: Error independiente con distribución normal de media de cero y varianza constante.

Se comprobaron los supuestos de las pruebas ANOVA con gráficos diagnósticos (cuantiles de los términos de error, gráficos de residuos y gráficos de residuos vs. predichos) y se realizó aquella con el mejor modelo en función de los criterios de Akaike (AIC) y de información Bayesiano (BIC). Cuando se comprobó un efecto significativo (α=0.05) se analizó la comparación de medias por medio de la prueba de Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) ($p \leq 0.05$) para la formación de grupos excluyentes y no transición entre tratamientos para identificar las diferencias específicas. Los datos se procesaron con los programas estadísticos R (versión 4.2.1) y RStudio (versión 2022.02.3).

4.10. Selección de las líneas mutantes

La selección de las líneas mutantes consideró como principales variables el rendimiento de la línea como indicador del comportamiento agronómico y el valor de contenido de clorofila como indicador de la asimilación de nitrógeno. Por ello, mediante el programa R se realizó una matriz de correlaciones de Spearman, según el comportamiento de los datos, para determinar las variables que se relacionaban en forma significativa y positiva con las dos variables principales ($p<0.05$; $r \geq 0.5$), donde se seleccionaron los criterios prioritarios asociados para discriminar la respuesta de las líneas en bajas dosis de nitrógeno (40%).

Posterior a esta elección, se consideró como línea promisoria aquella que la respuesta a dosis del 40% de N su respuesta fue estadísticamente mayor respecto al valor del testigo en la fertilización completa o no presenten diferencias significativas con el material testigo en dosis del 100% en los criterios establecidos. Para esto se aplicó una asignación de puntaje de 1 al 3, siendo el 3 la condición más favorable y 1 la condición menos favorable en comparación al testigo.

Por otra parte, se calculó la reducción porcentual en rendimiento de una misma línea al 40% de la dosis de N respecto al 100% de la dosis, para contrastar el efecto de la disminución del nutrimento en el desempeño del material.

Por último, se generó un análisis de componentes principales (PCA) para identificar el conjunto de variables que aportan mayor variabilidad a la respuesta de las líneas mutantes y, a la vez, describir el comportamiento de cada línea según las componentes encontradas.

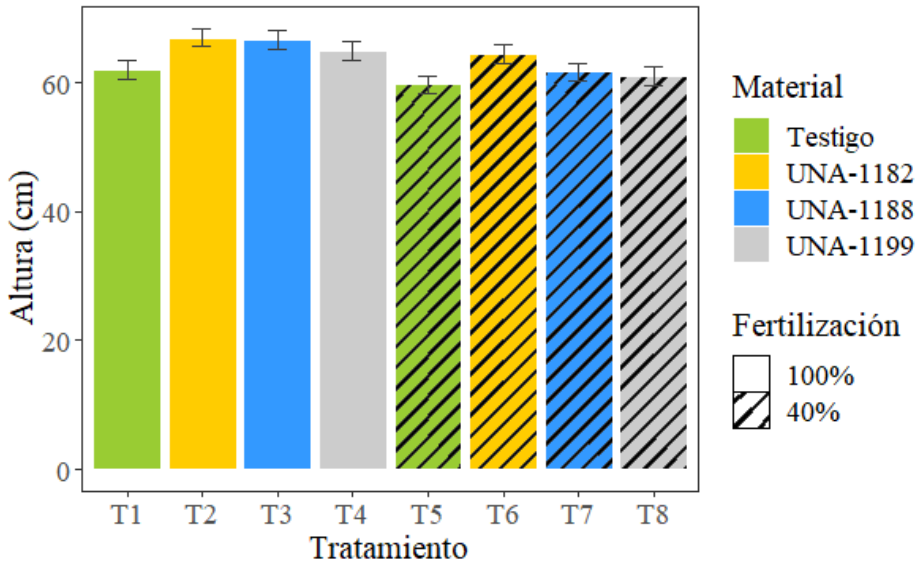
5. RESULTADOS

5.1. Variables morfológicas

En las variables morfológicas evaluadas, los valores promedios fueron mayores en las fertilizaciones con 100% de dosis de N. En el caso de la altura, el material testigo presentó el menor valor tanto dentro del grupo de 40% (T5) y del 100% (T1) (Figura 4). Se destacó la respuesta del T2, que corresponde al material UNA-1182 en una dosis del 100% de fertilización nitrogenada, este presentó los mayores valores promedios de altura y macollamiento.

Figura 4

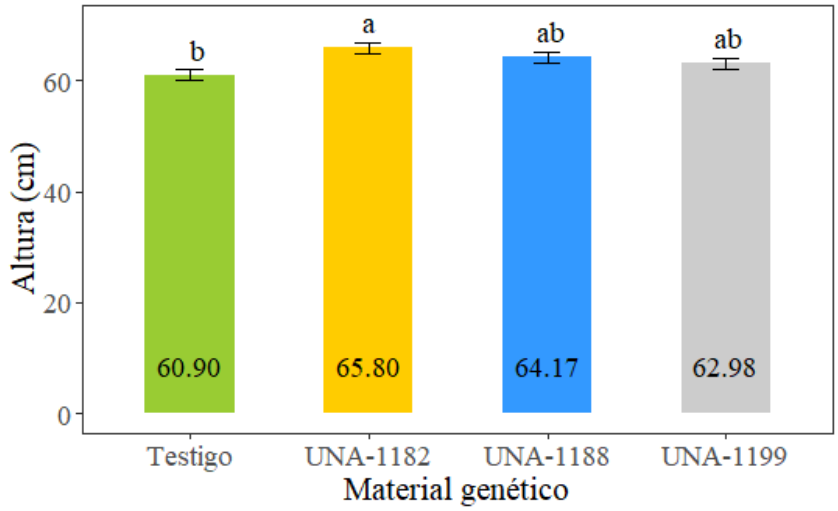
Altura promedio de la planta según el tratamiento de fertilización y material genético



Respecto a la altura, el rango fue de 59.8 a 67.0 cm, sin embargo, al realizar la comparación entre tratamientos no se obtuvieron diferencias significativas ($p>0.05$). Se presentaron diferencias al considerar los factores en forma independiente ($p<0.05$). Según el material genético, la línea UNA-1182 es la única diferente al material testigo, sin embargo, no presentó diferencias con los otros materiales mutantes (Figura 5). Se mostró que el nivel de fertilización sí afectó la expresión de esta característica, siendo mayor la altura cuando se colocó el 100% de N, mientras al 40% fueron menores ($p<0.05$).

Figura 5

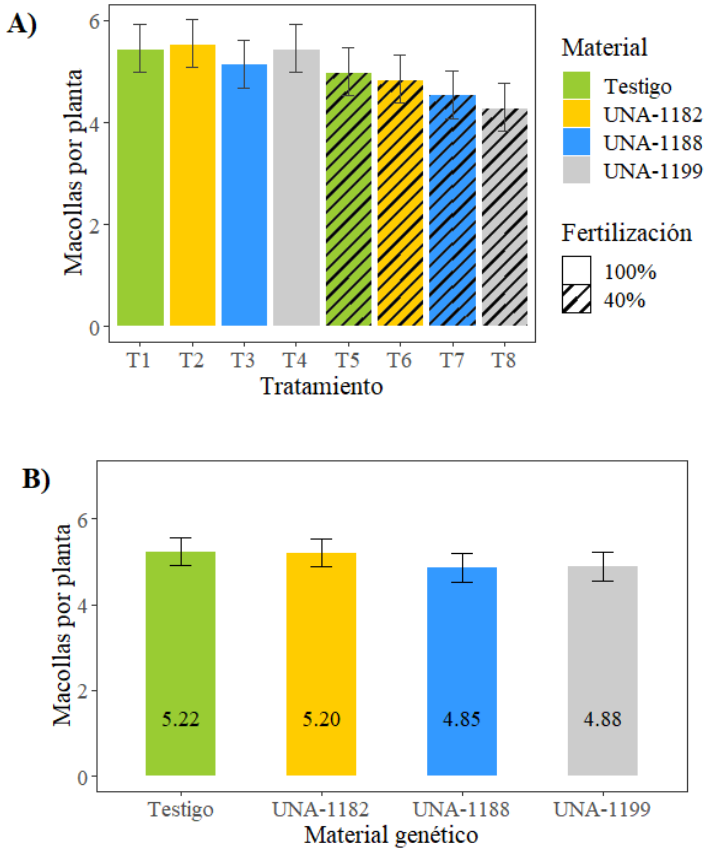
Altura promedio por el factor material genético.



En el caso del macollamiento, el T2 mostró el mayor valor y el T8 presentó el menor número de macollas por planta. En esta variable no se identificaron diferencias significativas para la interacción entre material y fertilización ($p>0.05$), asimismo no se tuvieron diferencias por el material genético de arroz ($p>0.05$) (Figura 6.A y 6.B). En esta variable las diferencias encontradas fueron debido al nivel de fertilización ($p<0.05$), por lo que ante niveles de fertilización al 100% se encontró mayor macollamiento con 5.4 macollas por plantas, en comparación al 40% con 4.6 macollas por planta.

Figura 6

Macollamiento promedio por planta de acuerdo con el (A) tratamiento y (B) material genético.



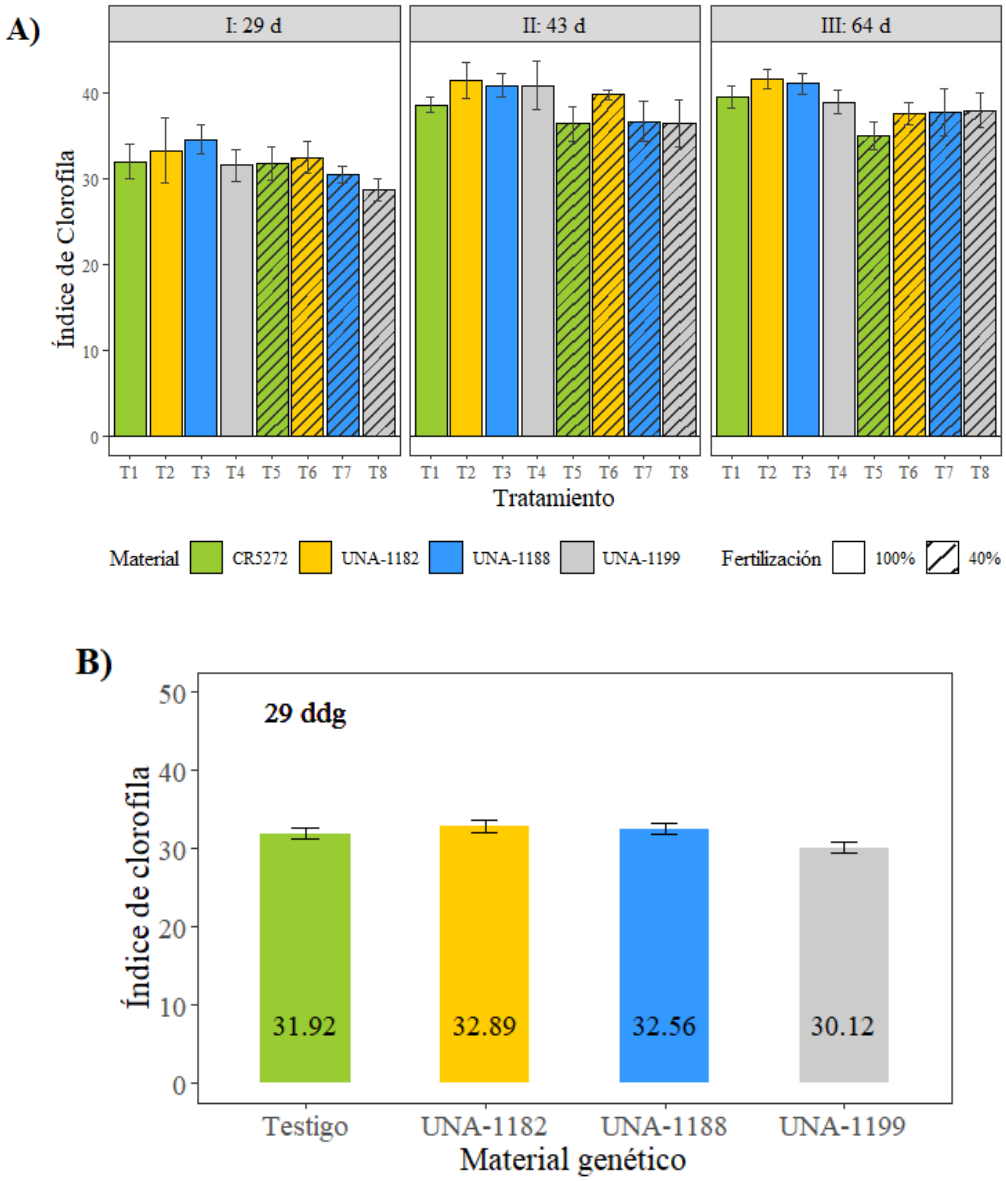
5.2. Variables fisiológicas

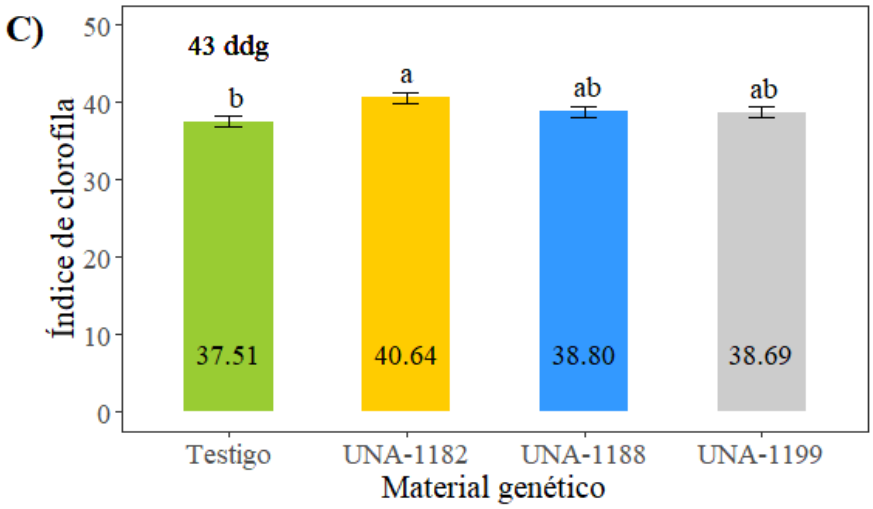
5.2.1. Índice de contenido de clorofila (ICC)

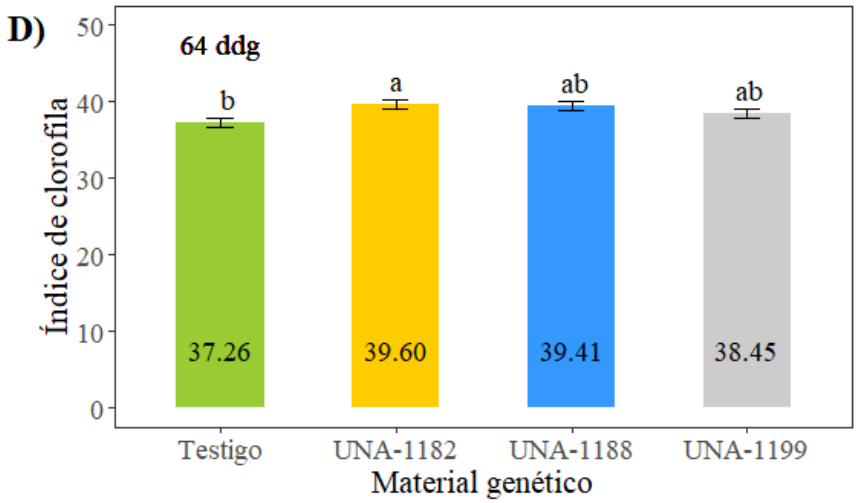
Los rangos de ICC obtenidos en la primera medición realizada a los 15 días posterior a la primera fertilización con fuente de nitrógeno (29 ddg) fueron de 28.7 a 34.6, los valores mayores se obtuvieron en los tratamientos con 100% de N, en particular en el T3 y T2 (Figura 7.A) y el menor valor se reportó para el T8. En esta medición se presentaron diferencias debido al factor de fertilización ($p<0.05$), siendo mayor el promedio para aquellas con fertilización al 100% (32.9) respecto a las de 40% (30.9). No se encontraron diferencias para la interacción de factores o por el material genético ($p>0.05$, Figura 7.B).

Figura 7

Índice de clorofila en las tres mediciones (A) y promedios de los materiales genéticos a los 29 ddg (B), 43 ddg (C)y 64 ddg (D).







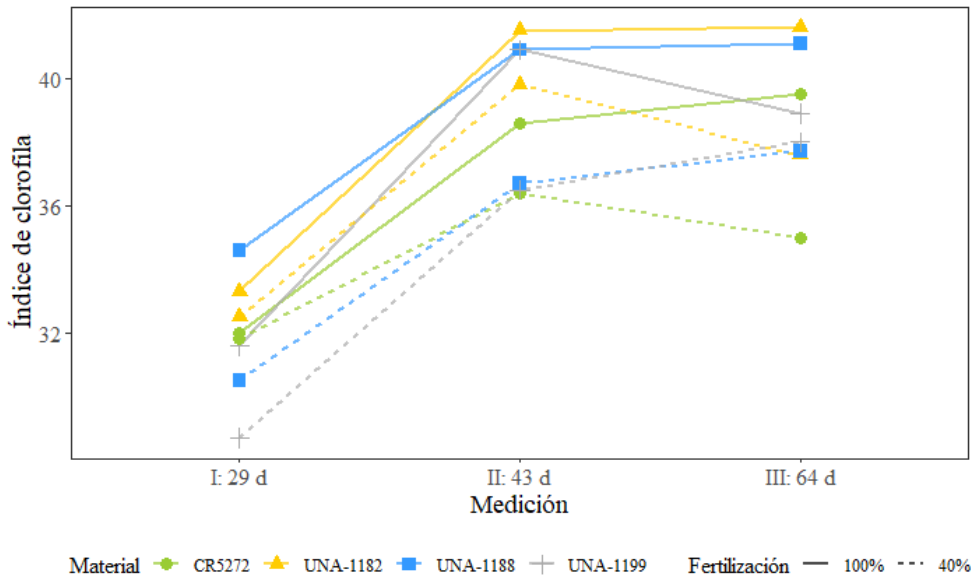
En la segunda medición el rango de índice de clorofila estuvo entre 41.5 y 36.4, correspondiendo al T2 y T5, respectivamente (Figura 7.A). Al igual que en la primera medición hay una tendencia en los tratamientos con fertilización del 100% a ser mayores, esto confirmado por el análisis estadístico por el factor de fertilización ($p<0.05$). Además, se identificaron diferencias por efectos del material genético (Figura 7.C), en lo cual el material UNA-1182 presentó diferencias respecto al material testigo; sin embargo, no hubo diferencias con los otros dos materiales mutantes. Respecto a la interacción, no se encontró influencia de la combinación de los factores en los valores de índice de clorofila ($p>0.05$).

En la última medición el rango fue de 41.6 a 38.0, siendo el valor mayor para el T2 y el menor para el T5 (Figura 7.A). El análisis estadístico mostró diferencias para la fertilización y el material genético ($p<0.05$) pero no para su interacción ($p>0.05$). En el caso de la fertilización, aquellos con 100% obtuvieron una media mayor (40.3) que con 40% (37.1). Con relación a los materiales, se mostró una diferencia entre el testigo y el UNA-1182 con un índice mayor; este material en comparación a los otros dos mutantes no presentó diferencias significativas (Figura 7.D).

La variación de la clorofila entre la medición I y II en la totalidad de los tratamientos presentó un comportamiento creciente obteniendo un valor superior en la segunda medición respecto a la primera (Figura 8). Entre el momento II y III, el cambio fue variable, algunos tratamientos como el T2 y el T3 se mantuvieron estables (cambiando en menos de 0.03 unidades), otro grupo (T4, T5 y T6) disminuyó su valor del índice de clorofila reportado en la tercera medición y un tercer grupo (T1, T7 y T8) presentó un aumento respecto a la segunda medición.

Figura 8

Variación en el índice de clorofila según día de medición por tratamiento.



Los materiales genéticos con un 100% de fertilización fueron superiores a los que tuvieron reducción en la dosis de fertilización nitrogenada. El material testigo CR5272, aún en 100% de

dosis, registró los valores bajos en el índice de clorofila en los tres momentos de medición. El material UNA-1182 en cada grupo de fertilización presentó los mayores valores de índice de clorofila en las mediciones II y III.

5.2.2. Índices de vegetación

Las fotografías para los índices de vegetación (IV) se capturaron en conjunto con los índices de clorofila. Se realizaron las comparaciones de cada IV entre tratamientos dentro de cada momento de medición. Se observó una tendencia en los cinco índices de vegetación estudiados, donde al disminuir la fertilización los valores del índice disminuyen respecto a los del 100%. Además, en la última medición realizada a los 64 ddg, se evidenció una mayor diferencia entre el material testigo y los tres materiales en el ensayo, debido a que estos se encontraron con mayor maduración del grano, lo que incidió en las lecturas de la reflectancia en las bandas espectrales.

Índice de Vegetación Normalizada (NDVI)

En la primera medición se presentaron los valores más bajos de NDVI, estos valores subieron en la segunda medición en todos los tratamientos y en la tercera medición presentó otro incremento, a excepción de los tratamientos T6, T7 y T8 donde disminuyó (Figura. 9). Los mayores valores de NDVI se muestran para los tratamientos con un 100% de fertilización (Tabla 5).

Figura 9

Valores de NDVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a cada la fertilización nitrogenada

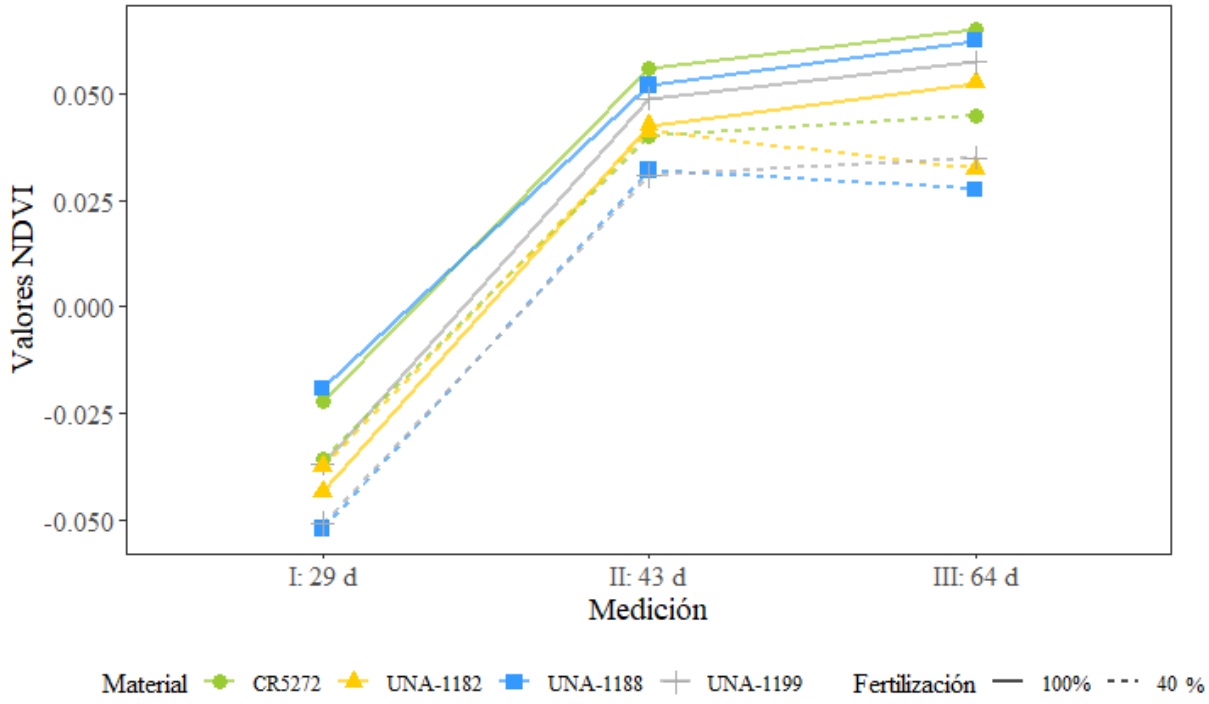


Tabla 5

Variación del promedio del VI en el tiempo por tratamiento

Trat.	Fert.	Material genético	Índice de Vegetación														
			NDVI			RVI			GNDVI			GVI			CIg		
			Medición														
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
T1	100%	CR5272	-0.022 a	0.056 a	0.065 a	0.960 a	1.120 a	1.136 a	-0.060 a	0.032 a	0.058 a	0.960 a	1.070 a	1.131 a	-0.109 a	0.070 a	0.131 a
T2		UNA-1182	-0.043 ab	0.043 abc	0.052 ab	0.920 ab	1.090 abc	1.110 abc	-0.089 abc	0.013 ab	0.031 abc	0.920 ab	1.030 ab	1.070 abc	-0.159 ab	0.030 ab	0.070 abc
T3		UNA-1188	-0.019 a	0.052 a	0.062 a	0.966 a	1.111 a	1.138 a	-0.065 ab	0.017 ab	0.056 a	0.966 a	1.038 ab	1.127 a	-0.119 ab	0.038 ab	0.127 a
T4		UNA-1199	-0.037 ab	0.049 ab	0.058 a	0.932 ab	1.104 ab	1.120 ab	-0.075 abc	0.022 ab	0.050 ab	0.932 ab	1.050 ab	1.111 ab	-0.136 ab	0.050 ab	0.111 ab
T5	40%	CR5272	-0.036 ab	0.040 abc	0.045a bc	0.934 ab	1.084 abc	1.092 abcd	-0.073 abc	0.004 ab	0.018 abcd	0.934 ab	1.011 ab	1.041 abc	-0.132 ab	0.011 ab	0.041 abc
T6		UNA-1182	-0.037 ab	0.041 abc	0.032 bc	0.931 ab	1.087 abc	1.070 cd	-0.078 abc	0.001 ab	0.007 bcd	0.921 ab	1.005 ab	1.017 bc	-0.142 ab	0.005 ab	0.017 bc
T7		UNA-1188	-0.052 b	0.032 bc	0.028 c	0.903 b	1.067 bc	1.057 d	-0.102 c	-0.008 b	-0.014 d	0.903 b	0.987 b	0.976 c	-0.183 b	-0.013 b	-0.024 c
T8		UNA-1199	-0.051 b	0.031 c	0.035 bc	0.095 b	1.064 c	1.075 bcd	-0.100 bc	-0.010 b	-0.007 cd	0.905 b	0.983 b	0.991 c	-0.180 b	-0.017 b	-0.009 c

Trt.: Tratamiento; Fert.: Fertilización. *Las letras distintas muestran diferencias significativas ($p<0.05$) dentro en cada medición para el índice de vegetación (columnas).

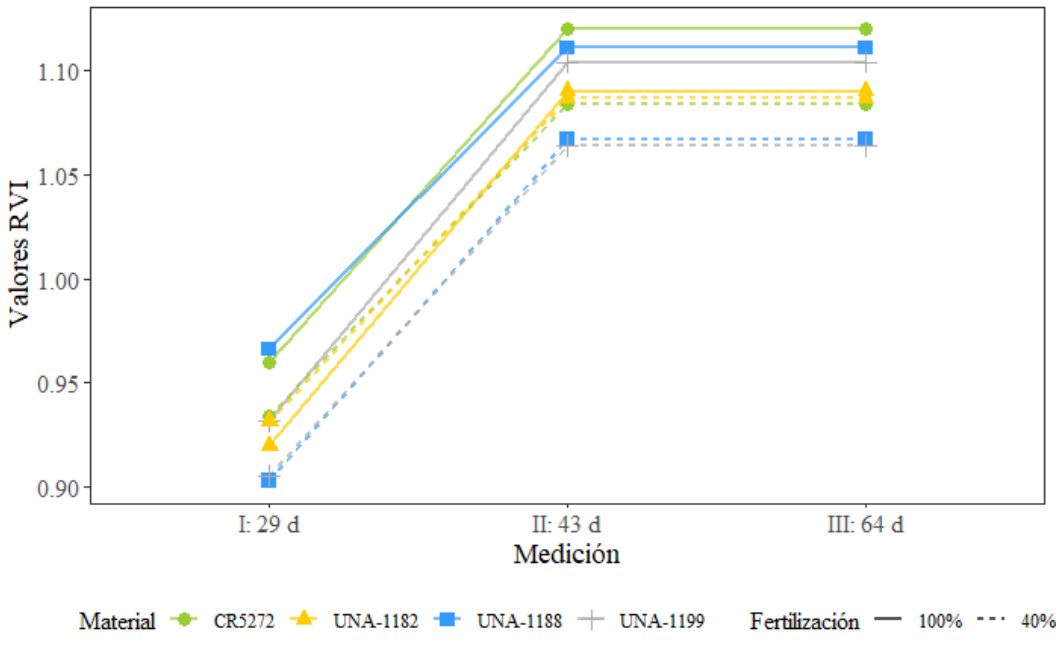
En las tres mediciones se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, los mayores valores fueron para T1 y T3, el testigo y el UNA-1188 con 100% de fertilización. El T7 y T8, presentaron los valores menores para las tres mediciones.

Índice de vegetación rojo (RVI)

El RVI mostró valores promedios entre 0.90 a 0.96 en la primera medición, 1.06 a 1.12 en la segunda medición y 1.05 a 1.13 en la última medición. La tendencia general fue menores valores para la fertilización con reducción al 40% (Figura 10). Los tratamientos presentaron diferencias significativas entre ellos ($p<0.05$, Tabla 5). Entre los tratamientos con 100% de fertilización destacaron los materiales CR5272 (testigo) y el UNA-1188, sin embargo, no se identificaron diferencias con los dos materiales genéticos restantes al 100%. En el 40% de la dosis de N, el material testigo y el UNA-1182 tuvieron los mayores valores en el índice, siendo este último el único material que a 40% no presentó una diferencia significativa con el testigo al 100%.

Figura 10

Valores de RVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada.



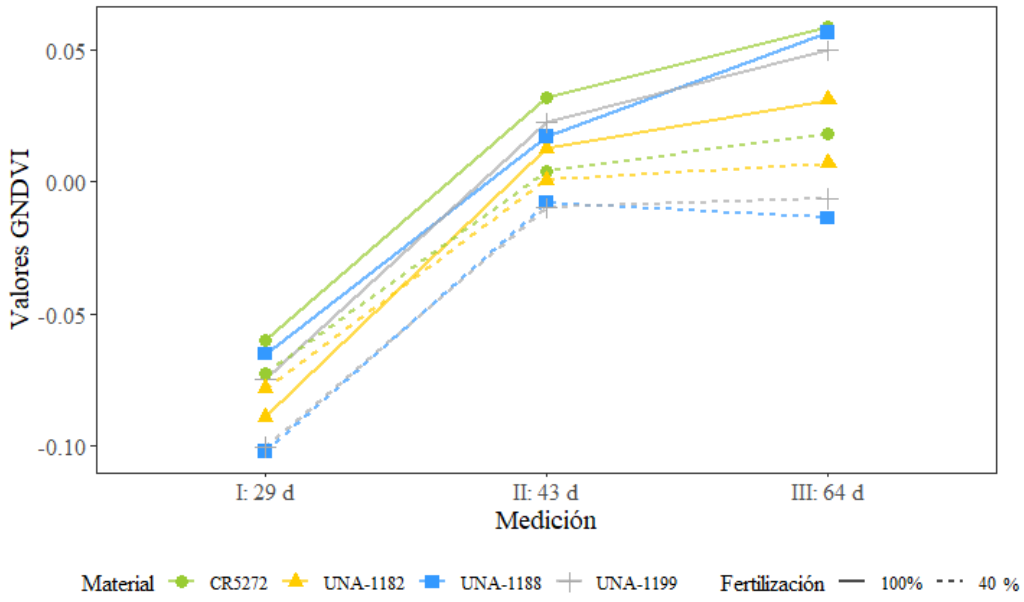
Índice de vegetación de diferencia normalizada verde (GNDVI)

El GNDVI durante la primera medición mostró valores negativos en la totalidad de tratamientos, en los siguientes momentos de medición los tratamientos del T1 al T4 que corresponden al 100% de fertilización presentaron un mayor incremento respecto a las de 40% (Figura 11; Tabla 5).

En las tres mediciones tanto T1 y T3 presentaron los valores mayores seguido de los otros dos materiales al 100%, sin embargo, al considerar estos materiales al 40% en la I y II medición solo UNA-1182 no presentó diferencias con el material testigo al 100%. Se evidencia que el UNA-1188 y UNA-1199 al utilizar el 40% de la dosis de nitrógeno presentaron los menores valores en los tres momentos.

Figura 11

Valores de GNDVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada.



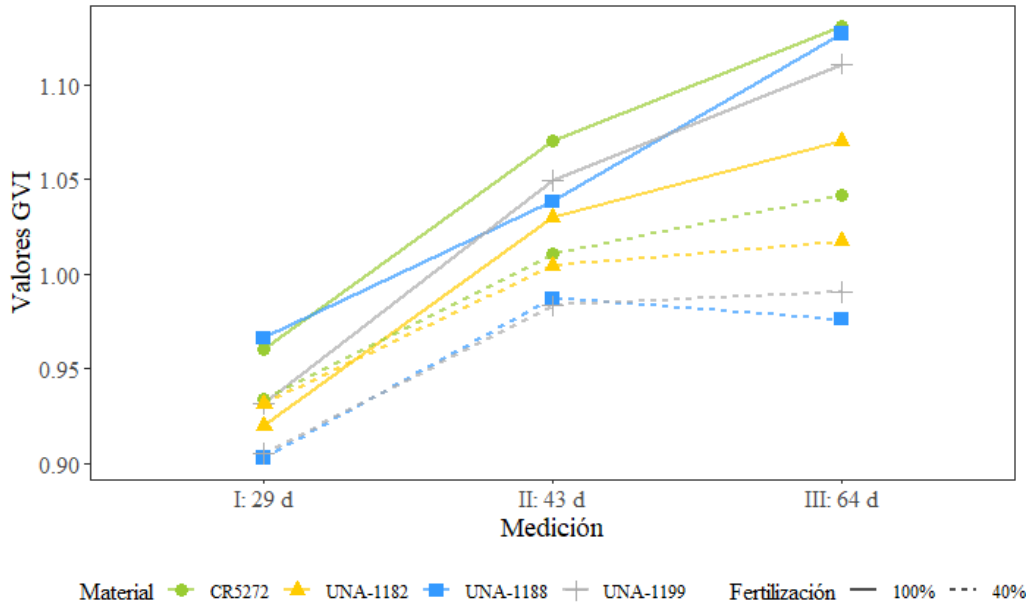
Índice de vegetación verde (GVI)

El GVI mostró un rango promedio de 0.90 a 0.96 en la primera medición y la última medición de 0.97 a 1.13, por lo que presentó un aumento gradual con el avance del cultivo (Figura

12). Los valores promedios de los tratamientos mostraron diferencias significativas en las tres etapas de medición ($p<0.05$, Tabla 5). Al igual que los índices anteriores se observa una disminución de los valores cuando se redujo la fertilización, sin embargo, en la primera y segunda medición el UNA-1182 es el material que no presentó diferencias significativas con el testigo al 100%.

Figura 12

Valores de GVI para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada.

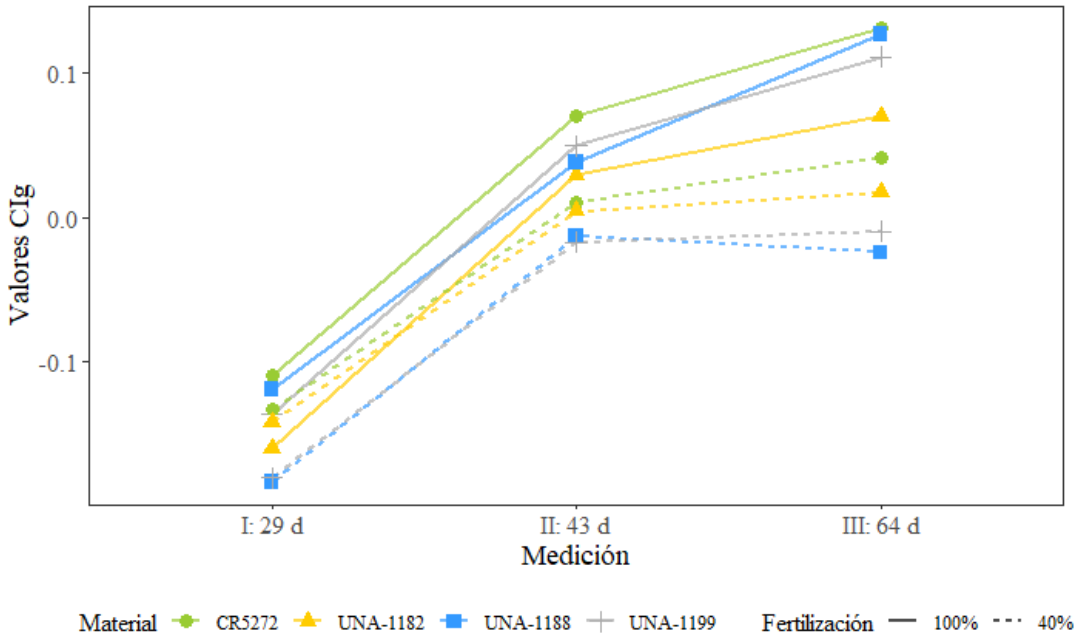


Índice Verde de Clorofila (CIg)

En la totalidad de tratamiento el CIg fue negativo en la etapa inicial y aumentó en las dos mediciones siguientes, en las cuales se observó una mayor variación entre los valores promedio del índice registrado entre el factor de fertilización. El testigo al 100% (T1) fue superior en las tres mediciones, seguido del T2 y T3. Entre los tratamientos al 40%, el material testigo y el UNA-1182 no presentaron diferencias significativas al T1 (a excepción de UNA-1182 en la medición III).

Figura 13

Valores de CIg para los tratamientos en las tres mediciones posterior a la fertilización nitrogenada.



Correlación entre clorofila e índices de vegetación (IVs)

Se correlacionó el ICC registrado con el SPAD para los tratamientos y los valores promedios de los índices de vegetación en cada etapa de medición, sin distinción por tratamiento, para establecer los IVs que brindaron información relacionada a la cantidad de nitrógeno presente en las plantas (Tabla 6). En la primera medición, los cinco IVs utilizados obtuvieron significancia estadística ($p<0.05$) y valores de correlación moderadas entre 0.56 a 0.65, por lo que para monitorear el uso de nitrógeno son preferibles los índices NDVI, RVI y GNDVI en esta etapa. En contraste en la segunda medición solo se encontró significancia con el NDVI y RVI, sin embargo, las correlaciones tuvieron valores de R^2 menores a 0.5 por lo que es una correlación débil

Tabla 6

Valores de coeficiente de determinación de Pearson y probabilidades de las correlaciones entre el contenido de clorofila y los índices de vegetación en cada medición y total

Medición	NDVI		RVI		GNDVI		GVI		CIg	
	R^2	p	R^2	p	R^2	p	R^2	p	R^2	p
I:29 ddg	0,65	<0,001	0,65	<0,001	0,56	<0,001	0,65	<0,001	0,56	<0,001
II: 43 ddg	0,41	<0,05	0,41	<0,05	0,34	>0,05	0,34	>0,05	0,34	>0,05
III: 64 ddg	0,48	<0,01	0,52	<0,01	0,35	<0,05	0,35	<0,05	0,35	<0,05
Total	0,80	<0,001	0,75	<0,001	0,75	<0,001	0,74	<0,001	0,75	<0,001

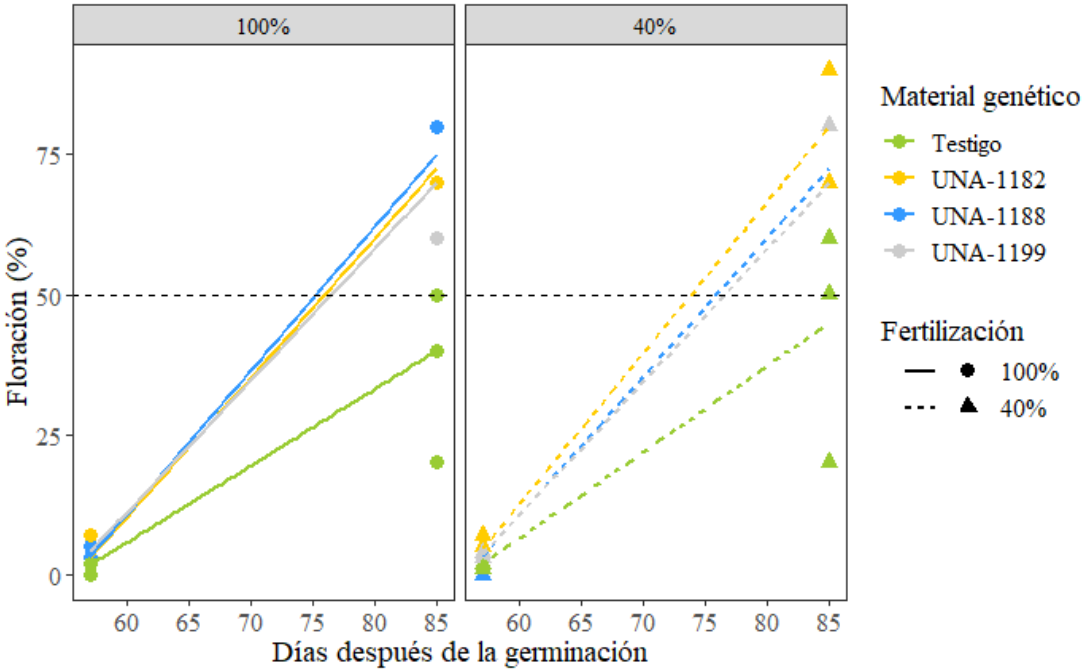
En la tercera medición, todas las correlaciones fueron significativas ($p<0.05$), pero con valores de R^2 menores de 0.5, a excepción del RVI donde sí se estableció una correlación moderada y sería útil al estudiar el uso de nitrógeno en la etapa de los 64 ddg. Al analizar la totalidad de los datos de los contenidos de clorofila registrados y los índices sí se evidenció que existe una correlación fuerte entre las variables, con valores de R^2 entre 0.74 a 0.80, por lo que los cinco IVs son útiles para monitorear el comportamiento en uso de nitrógeno en el tiempo en el cultivo, principalmente el NDVI.

5.2.3. Etapas fenológicas

El monitoreo de la floración se realizó en dos momentos: a los 55 y 85 ddg, se estableció el momento de floración de cada tratamiento mediante un modelo de regresión lineal para obtener los días en que la floración era del 50%, este modelo no contó con significancia estadística, por lo que su uso es descriptivo. En ambas dosis, los materiales mutantes en estudio obtuvieron el 50% de floración dentro del período estudiado, mientras el material testigo en ninguna dosis alcanzó en promedio el 50% aún a los 85 días (Figura 14).

Figura 14

Ajuste lineal de los porcentajes de floración de cada tratamiento para la estimación del 50% de floración



La mayor cantidad de días para el 50% de floración es para el material testigo en ambas dosis, llegando hasta los 116 ddg. Los materiales restantes, en forma independiente a su fertilización obtuvieron una estimación de días a floración entre 74 a 77 días (Tabla 7). El tiempo de cosecha se estimó en forma visual, a los 110 ddg el material mutante presentó el 90% de granos maduros.

Tabla 7

Estimación de días para el 50% de floración de cada tratamiento mediante ajuste de regresión lineal

Tratamiento	Fertilización	Material	Ecuación lineal*	Días para 50% de floración (ddg)
T1	100%	CR5272	y=1.36x-76.11	92
T2		UNA-1182	y=2.48x-138.48	76

T3		UNA-1188	y=2.56x-142.81	76
T4		UNA-1199	y=2.35x-129.60	76
T5	40%	CR5272	y= 1.35x-85.54	116
T6		UNA-1182	y= 2.68x-148.44	74
T7		UNA-1188	y= 2.46x-136.96	76
T8		UNA-1199	y= 2.36x-131.12	77

*Los ajustes no tienen significancia estadística (p>0.05).

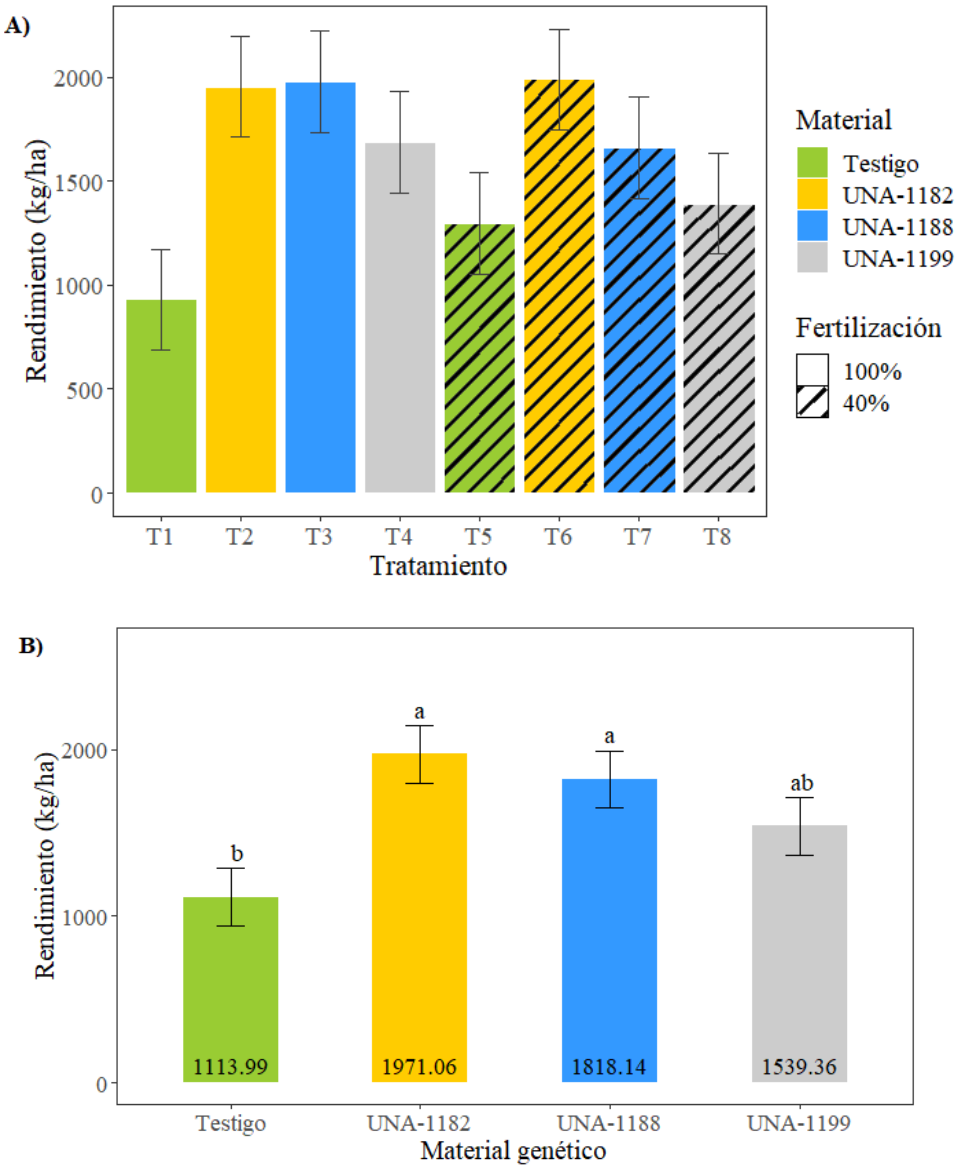
5.3. Variables de rendimiento

Rendimiento

En el cálculo del rendimiento se consideró un aumento 10% del valor obtenido, se ajustó considerando que la cosecha fue manual y este método tiene menor eficiencia en recolección de grano. El rango de valores fue de 931.0 kg/ha hasta los 1988.0 kg/ha. Los tratamientos con mayor rendimiento fueron el T6 y el T3 (Figura 15.A), que corresponden a UNA-1182 al 40% y UNA-1188 al 100%, respectivamente. El menor rendimiento lo obtuvo el material testigo al 100%, por lo que la totalidad de los tratamientos superaron este valor de referencia.

Figura 15

Rendimiento promedio por hectárea de acuerdo al (A) tratamiento y (B) material genético.



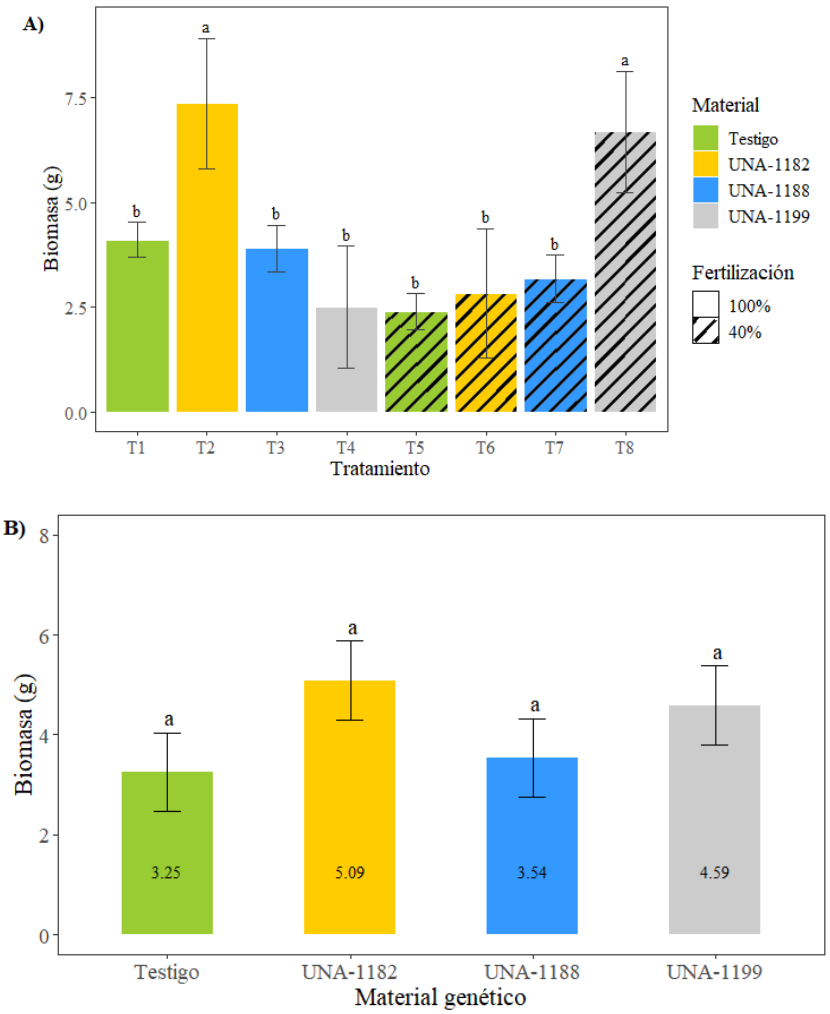
El análisis estadístico no mostró diferencias significativas con la interacción de los dos factores o solo la fertilización ($p>0.05$), sin embargo, sí mostró un efecto del material genético utilizado ($p<0.05$). Considerando sólo la influencia de los materiales, hay diferencias entre el testigo y los materiales UNA-1182 y UNA-1188 (Figura 15.B), por otra parte, no hay diferencias entre los materiales mutantes.

Biomasa

Los rangos de biomasa seca fueron de 2.4 g a 7.3 g, la mayor deposición de biomasa estuvo en los tratamientos T2 y T8, que corresponden a UNA-1182 al 100% y UNA-1199 al 40%, mientras la magnitud menor fue en el material testigo con 40% (Figura 16). El análisis estadístico mostró efectos de la interacción entre factores ($p<0.05$), no se identificaron por solo efecto de las variables en forma independiente ($p>0.05$ Figura 16.B). Entre los tratamientos el T2 y T8 fueron significativamente diferentes al resto, con una magnitud mayor; mientras que para los seis restantes no se encontraron diferencias estadísticas.

Figura 16

Biomasa promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético.

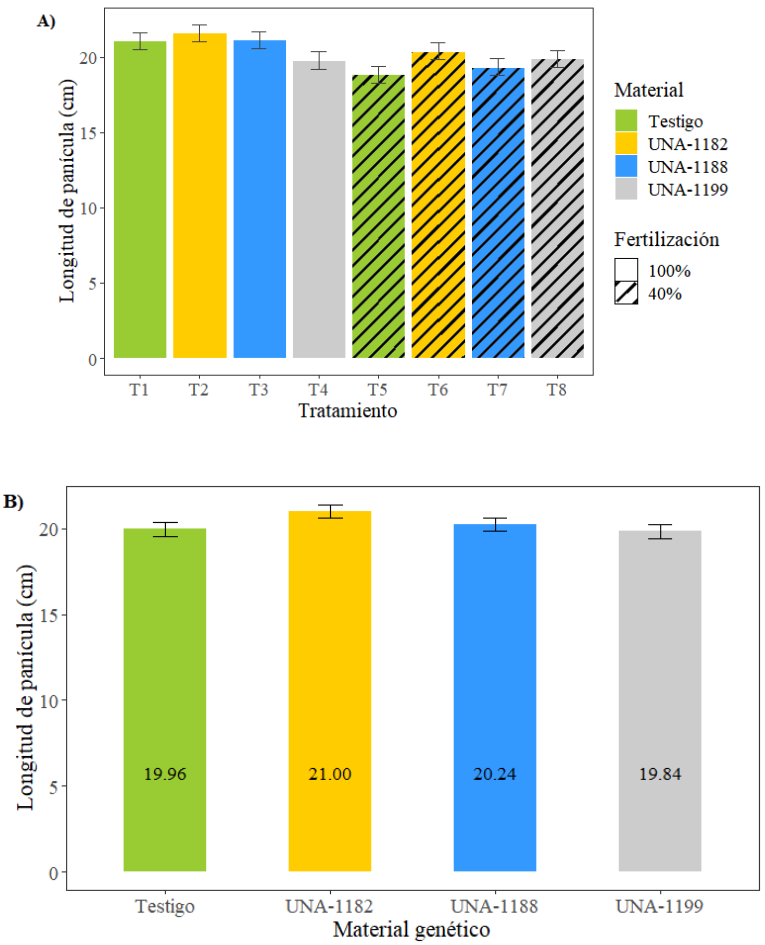


Longitud de panícula

La longitud de panícula estuvo en un rango entre 18.9 cm y 21.6 cm; la mayor longitud la presentó el tratamiento T2 , seguido de T1 y T3, en contraste, el testigo al 40% obtuvo el menor valor. En el análisis no se encontró influencia de la interacción ni de los materiales genéticos ($p<0.05$), lo que promovió el cambió en longitud de panícula fue la fertilización ($p<0.05$). En las fertilizaciones con 100% la media de longitud fue mayor con 20.9 cm, mientras que en 40% fue de 19.6 cm, siendo una variación en 1.3 cm ($p<0.05$). Se indica que el material UNA-1182 fue mayor en ambos grupos de fertilizaciones, los materiales restantes no presentaron una tendencia para fertilizaciones. (Figura 17)

Figura 17

Longitud de panícula promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético.

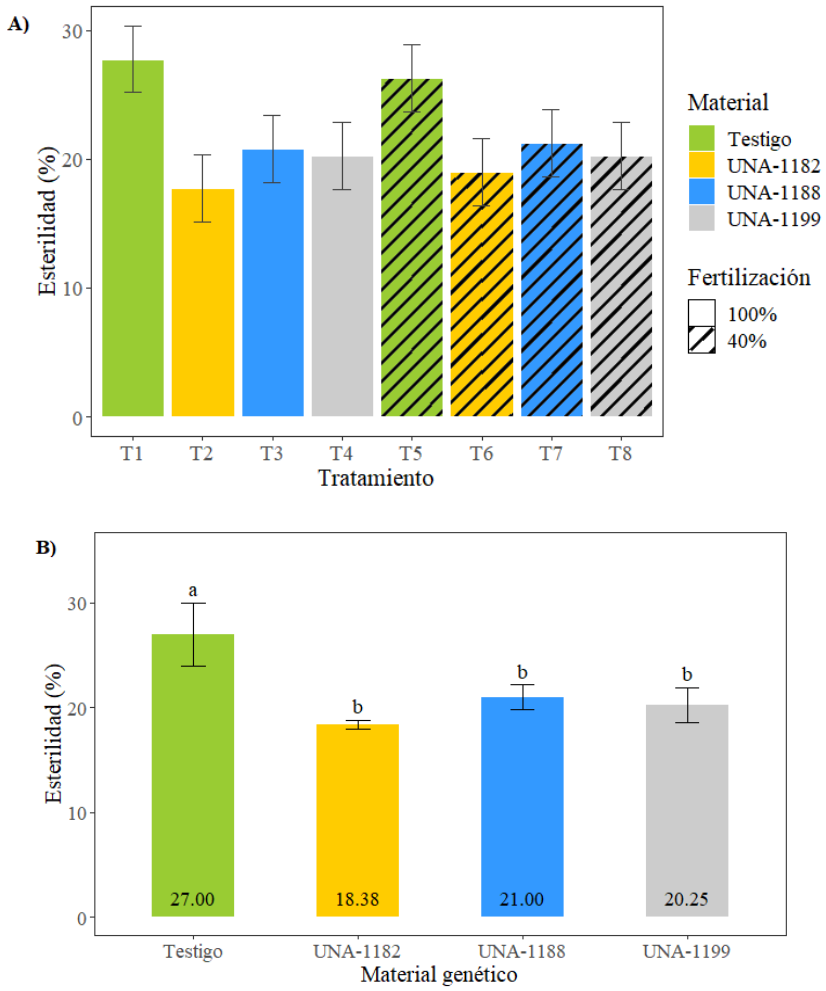


Esterilidad

El rango de esterilidad de los tratamientos fue de 28% al 18%, el mayor porcentaje se dió en los tratamientos con el material testigo bajo los dos tipos de fertilización (Figura 18). En el material testigo se presentaron las desviaciones estándar más altas en ambos casos, por lo que tuvo alta variabilidad en los datos reportados. La menor esterilidad se observó en el material UNA-1182 con ambas fertilizaciones (T2 y T6). El análisis estadístico mostró influencia únicamente debido al material genético, en donde la totalidad de los materiales mutantes tuvieron diferencias significativas con el testigo; a la vez, entre los tres materiales no se encontraron diferencias ($p<0.05$).

Figura 18

Esterilidad promedio según el (A) tratamiento y (B) material genético.



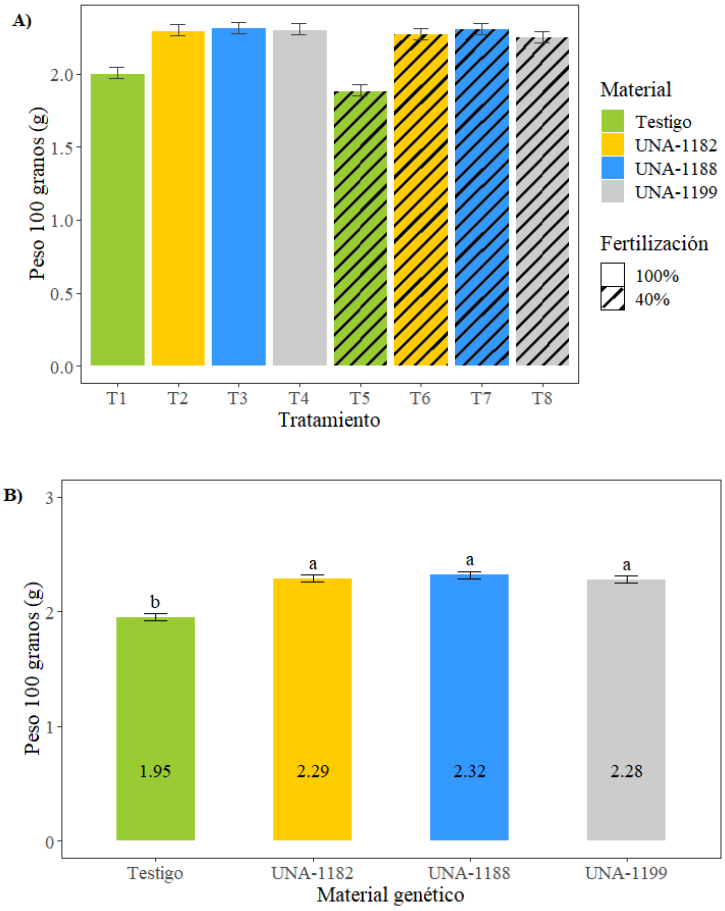
Peso 100 granos

El peso de 100 granos presentó un rango desde 2.32 g a 1.89 g. Los mayores pesos en esta variable fue el material UNA-1188 en ambas fertilizaciones, por su parte el material testigo al 40% representa el menor peso de 100 granos (Figura 19.A). En general, por material genético se reportó mayor peso de los granos con una fertilización al 100%, respecto al 40%. El análisis estadístico mostró sólo diferencias significativas por efecto del material y no se encontró para las interacciones o el fertilizante.

Las diferencias por el material genético indican que los materiales mutantes son distintos al testigo para esta variable ($p<0.05$, Figura 19.B), siendo los mutantes mayores al testigo; entre los mutantes no se identificaron diferencias.

Figura 19

Peso promedio 100 granos según el (A) tratamiento y (B) material genético.



5.4. Selección de líneas mutantes

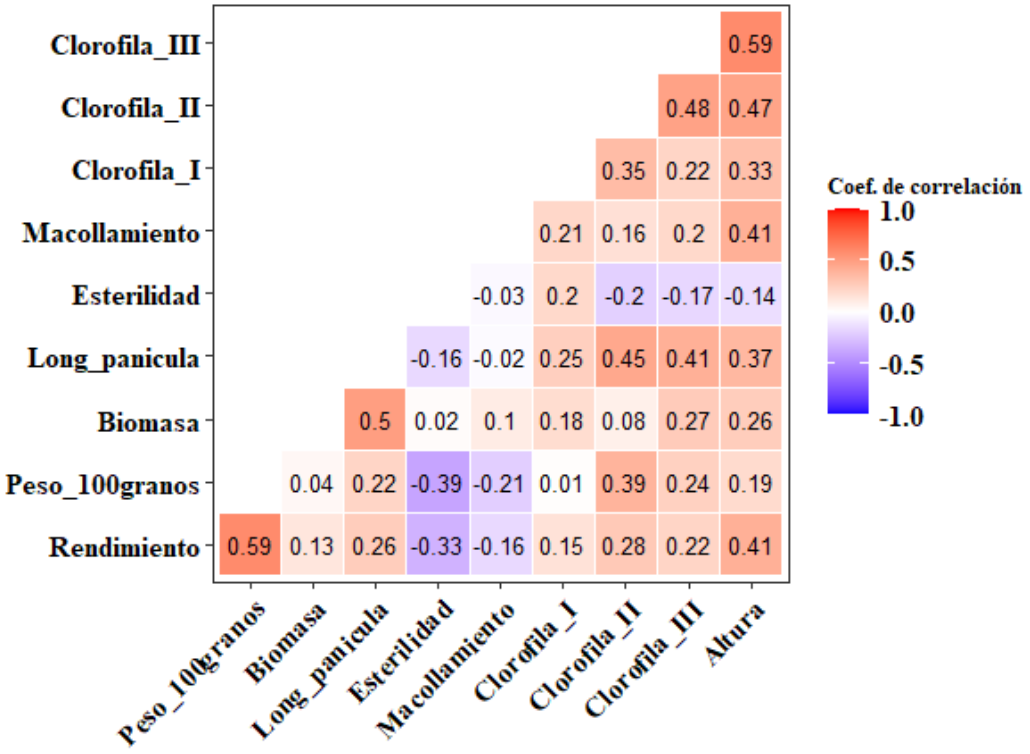
Definición de parámetros para selección de líneas

La definición de las variables a utilizar para establecer los parámetros de selección se basaron en un análisis de correlaciones para determinar la asociación entre los indicadores de rendimiento y fisiológico. Las correlaciones se calcularon con las variables morfológicas y los componentes de rendimiento contra el rendimiento de los materiales, como indicador de producción por área, y los índices de clorofila, como indicadores del estado de la asimilación de nitrógeno en la planta. Con la variable de rendimiento la correlación significativa se mostró

únicamente con el peso de 100 granos con un R^2 positivo y mayor a 0.5 ($p<0.05$), las correlaciones restantes con el rendimiento son débiles y no significativas (Figura 20).

Figura 20

Matriz de correlación entre rendimiento, índices de clorofila, variables morfológicas y componentes de rendimiento



En el caso de los ICC, de las tres mediciones solo se dieron correlaciones significativas en la tercera medición con la variable morfológica de altura. En síntesis las variables para selección de las líneas se priorizaron a: rendimiento por hectárea, índice de clorofila en la tercera medición, altura y peso de 100 granos.

Comparación de la respuesta de las líneas mutantes al 40% de dosis de nitrógeno

Se realizó la comparación entre las líneas al 40% respecto al material testigo al 100% (Tabla 8), se muestra que el material UNA-1182 respecto al material testigo tuvo el mayor incremento porcentual que los otros materiales en las variables de rendimiento y altura. El material UNA-1188 tuvo un incremento mayor en el peso de 100 granos y el UNA-1199 tuvo la menor reducción de clorofila en la tercera medición, todos respecto al testigo al 100% de la dosis. La asignación de una puntuación deja a dos líneas mutantes con el mismo resultado positivo.

Tabla 8

Comparación de los parámetros de selección de los materiales genéticos al 40% (T5-T8) respecto al testigo al 100% (T1).

Materiales al 40%	Rendimiento*		Clorofila III*		Altura*		Peso 100 granos*		Total
	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	
Testigo	39.31	-	-11.39	-	-3.55	-	-5.87	-	-
UNA-1182	113.53	3	-4.81	1	4.20	3	13.39	2	9
UNA-1188	78.22	2	-4.55	2	-0.48	2	15.08	3	9
UNA-1199	49.49	1	-3.79	3	-1.61	1	12.25	1	6

*Los materiales con 40% de dosis de fertilizante nitrogenado no presentaron diferencias significativas con el CR5272 al 100% (testigo).

Debido a que las tendencias de los materiales con distinta fertilización no evidenciaron diferencias significativas, se procedió a valorar por el factor del material en forma independiente a la fertilización con nitrógeno. Según este análisis se muestra (Tabla 9) que las variables de rendimiento y peso de 100 granos son las que presentan mayores incrementos porcentuales respecto a los promedios del material CR5272, mientras el índice de clorofila y la altura tuvieron incrementos máximos de 8%.

Tabla 9

Comparación del CR5272 (testigo) con los materiales genéticos en cambios porcentuales en los parámetros de selección.

Materiales	Rendimiento		Clorofila III		Altura		Peso 100 granos		Total
	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	C. porc. (%)	Ptos	

UNA-1182	76,94*	3	6,28*	3	8,04*	3	17,44*	2	11
UNA-1188	63,21*	2	5,77	2	5,36	2	18,97*	3	9
UNA-1199	38,18	1	3,19	1	3,42	1	16,92*	1	4

*Indica diferencia significativa ($p<0.05$) respecto a CR5272 (testigo).

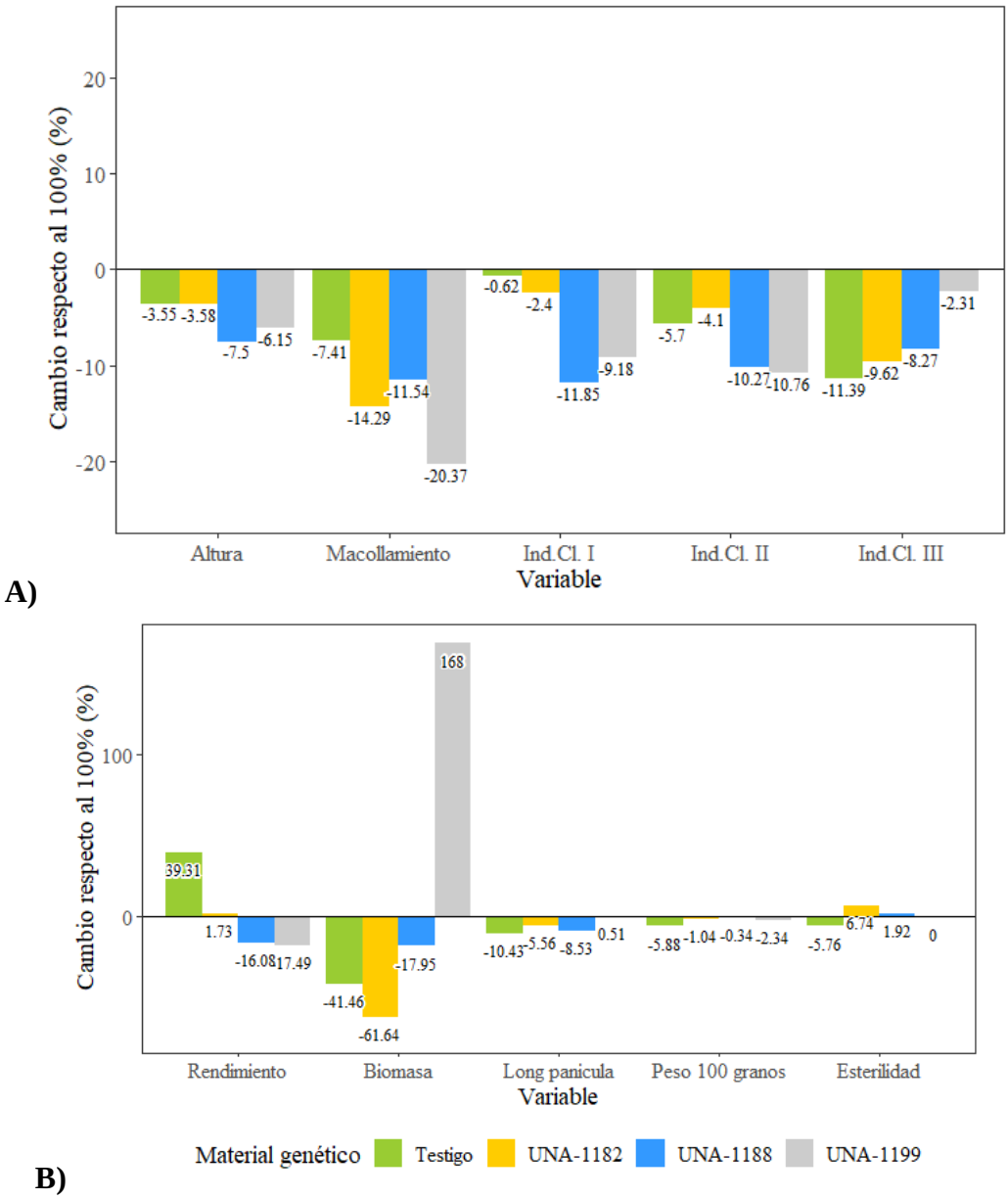
El material genético UNA-1182, es el único que registró diferencias significativas en los cuatro parámetros de selección, siendo el que presentó los mayores cambios porcentuales en tres de las cuatro variables consideradas. El material UNA-1188 obtiene el segundo lugar en aumentos de los parámetros en comparación con el testigo, por último la línea UNA-1199 mostró las menores diferencias porcentuales respecto al desempeño del testigo.

Cambios porcentuales de las variables dentro de cada línea mutante

Entre los tres materiales evaluados la totalidad de las variables presentaron disminuciones porcentuales cuando se les redujo la dosis de N, a excepción del testigo con el rendimiento, el UNA-1199 con la biomasa y el UNA-1182 con la esterilidad (Figura 21.A y B). La respuesta de UNA-1182 tiene en la mayor cantidad de variables con menor variación porcentual cuando se reduce al 40% de la fertilización nitrogenada respecto a la dosis del 100%. El material UNA-1188, a pesar de tener un comportamiento destacado al 100%, al disminuir la dosis este material presenta una mayor disminución porcentual en la respuesta de siete variables, mientras el UNA-1199 presentó la mayor cantidad de variables que respondieron en forma negativa para el desempeño en campo.

Figura 21

Cambios porcentuales de las variables morfológicas, fisiológicas (A) y componentes de rendimiento (B) dentro de cada material genético al disminuir la dosis de nitrógeno.



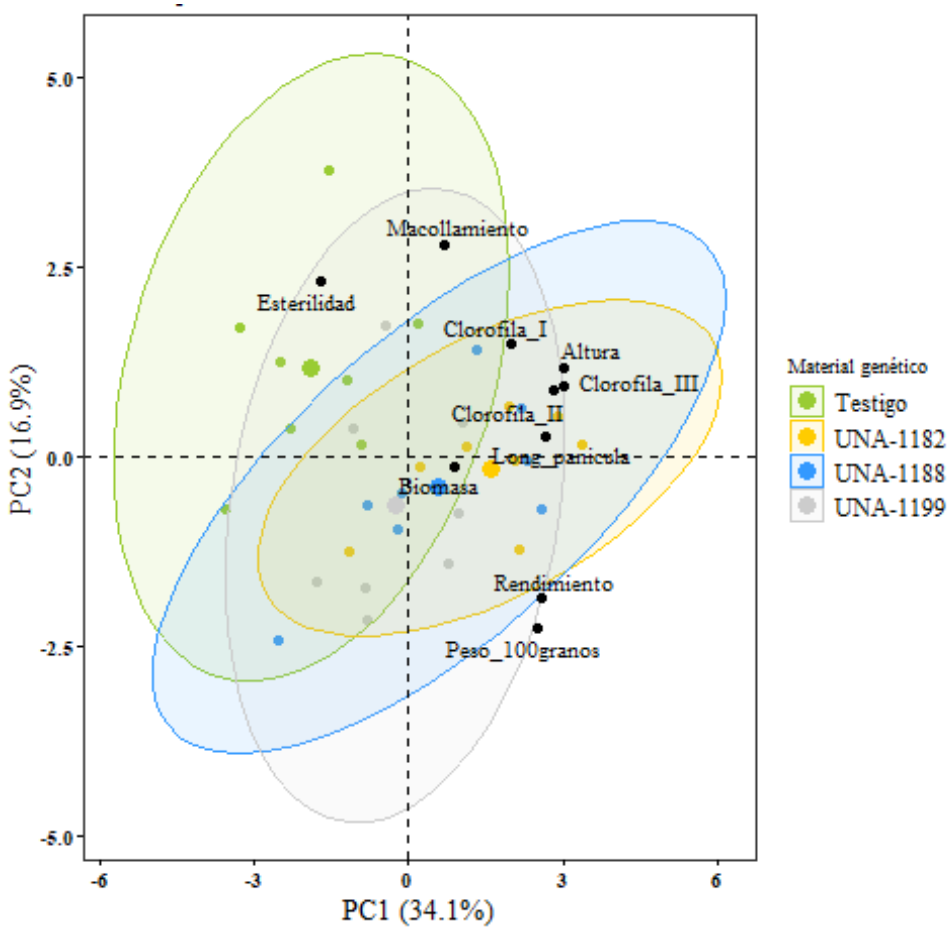
Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales mostró que un 51.03% de la variación de los materiales de arroz se explica mediante dos dimensiones (Figura 22). La primera dimensión o

componente principal aportó un 34.1% de la variación, con contribución de las variables de índice de clorofila en la III medición, la altura y la clorofila de la II medición, en orden de importancia respectivamente. En la segunda componente principal hay una influencia positiva del macollamiento y la esterilidad, en tercer lugar de contribución se observa una relación negativa con el peso de 100 granos.

Figura 22

Análisis de componentes principales para los cuatro materiales genéticos.



Según este análisis, el material testigo mostró una agrupación hacia las variables de esterilidad debido a sus valores altos registrados en todas las microparcelas, también fue el grupo más distante a las variables de rendimiento, peso de 100 granos y los índices de clorofila en las tres mediciones. En el material UNA-1182 los valores se agruparon cerca de las variables de altura,

índices de clorofila y longitud de la panícula. En el caso de UNA-1188 y UNA-1199 no se mostró un patrón definido respecto a las variables, debido a que presentaron un comportamiento cambiante según la respuesta de nitrógeno.

6. DISCUSIÓN

El nitrógeno tiene un papel central en el desarrollo y crecimiento de las plantas, por lo tanto al afectar el acceso a este recurso se esperaría que hubieran cambios notables en los individuos como respuesta a su deficiencia respecto a una condición de disponibilidad total. Por otro lado, la capacidad de respuesta de los individuos al recurso podrían ser diferentes, en esta investigación al evaluar líneas inducidas a mutación, estas podrían tener respuestas distintas debido a cambio en genes que modifiquen las rutas fisiológicas para el uso del nitrógeno (Feng *et al.,* 2015).

6.1. Variables morfológicas

La altura es una característica que se busca en las variedades para contrarrestar el efecto del volcamiento en las plantas, por ello se ha buscado en la selección genética los materiales con portes medianos a bajos, sin comprometer la producción de grano (Jennings *et al.,* 1981).

En este estudio se observó que solo la línea UNA-1182 fue diferente al testigo, mientras los otros materiales no presentaron diferencias. Esto es consistente con los programas de mejoramiento genético, donde la variable altura muestra variaciones no significativas respecto al material de origen, por lo que suele ser constante. En Hu *et al.,* (2023) menciona que esta propiedad se aprovecha porque es deseable que las características de porte se mantengan a pesar de la inducción a cambios para mejoras en el rendimiento.

Este hallazgo es relevante debido a que indica que las líneas pueden mejorar su respuesta al uso de nitrógeno sin afectar la altura de la planta, porque no sería deseable cambios hacia mayores alturas debido a que disminuiría la resistencia al volcamiento por el viento. Según las variedades estudiadas estas son fenotipos adecuados, aunque se puede observar que la diferencia entre el UNA-1182 y el material testigo fue de alrededor de 5 cm, su clasificación del porte no cambia en la descripción varietal considerados los cuatro materiales como plantas semienanas, menores a 100 cm (CIAT, 1983), otorgándole la misma resistencia al acame. Además, según los

datos reportados por la Oficina Nacional de Semillas, las variedades no alcanzaron la altura promedio descrita de 96 cm (Oficina Nacional de Semillas [ONS], 2020).

En cuanto al efecto de la fertilización nitrogenada, se determinó que todos los materiales tuvieron menor altura con la menor dosis. En Aguilar *et al.* (2018) se observó un patrón similar, donde se evidenció que hay un efecto entre una fertilización de arroz con cero nitrógeno y las dosificaciones que sí incluían este nutrimento. En Neeraja *et al.*, (2019) se mostraron disminuciones de hasta 30% en la altura cuando las dosis de nitrógeno fueron reducidas, por lo que dentro de una misma variedad sí se tiene respuestas diferenciadas según la disponibilidad de N.

En el macollamiento, al igual que en la altura, esta característica se afecta por la disponibilidad del nutrimento, por lo que es esperable que disminuya cuando la dosis es menor. No se registraron efectos ni por material genético ni por tratamiento, debido a que esta característica suele ser estable entre las líneas genéticas de origen y las líneas generadas por selección (Saito *et al.*, 2018). Se observó que el macollamiento fue entre escaso (<5 macollas) y débil (5 a 9 macollas por planta) según el SEEA (CIAT, 1983), lo que coincide con el reporte varietal del material testigo CR5272 con una clasificación como bajo (ONS, 2020). Esta característica es relevante debido a que influye en la cantidad de panículas productivas de una planta y el desarrollo arvenses en sus alrededores (Saito *et al.*, 2018), por ello la mejora genética de arroz prefieren las variedades de alto macollamiento.

En algunos casos la inducción a mutaciones influye en el desempeño de reguladores genéticos para la expresión de macollamiento, por ejemplo, el regulador NGR5, al activarse promueve la generación de macollas por planta (Hu *et al.*, 2023; Yu *et al.*, 2020). También se ha reportado que algunos genes hacen que la respuesta en macollamiento tenga mayor o menor sensibilidad a la presencia de nitrógeno, sin embargo, no se observó este efecto porque las diferencias entre la fertilización al 100% y al 40% representa una macolla más en la fertilización completa, mientras en otros estudios se duplicó la cantidad de macollas por planta (Neeraja *et al.*, 2019).

6.2. Variables fisiológicas

6.2.1. Índice de contenido de clorofila

Los valores del ICC obtenidos se encuentran entre los rangos reportados en investigaciones para el cultivo del arroz. Asimismo, el ICC en el tiempo tuvo un comportamiento donde desde el inicio de la etapa vegetativa hacia el macollamiento tiende a aumentar, es decir entre 10 a 70 días después de la germinación, y hacia la fase de llenado de grano disminuye (Yang *et al.*, 2014).

En la primera medición no se observaron diferencias significativas en los valores del ICC, esta situación está reportada por otras investigaciones (Jinwen *et al.,* 2009), mientras que en las etapas siguientes sí se observaron diferencias debido al material genético. Esto sucede porque en los primeros días posterior a la germinación la demanda de nitrógeno en el arroz no es alta en comparación al período entre 50 a 70 días, por lo que la limitante del nutrimento logra ser compensada con el nitrógeno presente en el suelo (Bertsch, 2003; Yang *et al*., 2014) y no se detectan diferencias en las lecturas, sin embargo, cercano al pico de demanda el impacto de la disponibilidad de N genera diferencias que son registradas por el SPAD.

Por lo anterior se ha reportado que la sensibilidad del instrumento aumenta conforme avanza la fenología del cultivo, con el momento de mayor precisión a los 65 posterior al transplante (Jinwen *et al.*, 2009), en este caso la medición II y III, realizadas a los 43 y 64 días respectivamente, fue donde se registraron las diferencias. Además, en estas dos últimas mediciones correspondieron a la aplicación del 30% y 40% de la fuente nitrogenada debido a que son los mayores momentos de requerimiento en el cultivo (Yang *et al.,* 2018).

Durante la etapa vegetativa el estrés por disponibilidad de N en el arroz, provoca que el contenido de clorofila disminuya (Mu & Chen, 2021) porque hay una caída en la transformación del nitrógeno inorgánico absorbido a nitrógeno orgánico debido a que el proceso fotosintético no es capaz de producir las moléculas de carbono necesarias para el proceso (Liang *et al.*, 2015). Por ello se encuentra en las hojas una mayor acumulación de carbohidratos solubles debido a que las plantas bajo estrés no tienen la capacidad energética de destinarla a las funciones metabólicas y en consecuencia una menor concentración de proteínas solubles que se destinen en la deposición estructural. En contraste una mayor disponibilidad de N, aumenta el transporte interno del nutriente y aumenta la capacidad fotosintética (Liang *et al.,* 2015).

En la comparación de los materiales genéticos, se observa que los mayores valores son registrados por el UNA-1182, independientemente de su fertilización, por lo que se puede deducir que este material tuvo menos estrés por la disponibilidad de N, en comparación al material testigo. Tanto los materiales UNA-1188 y UNA-1199, aunque no fueron diferentes, registraron valores estadísticamente iguales al testigo; por lo que afectaría la baja disponibilidad de N de la misma forma que al material original.

En los tratamientos T4, T5 y T6, se observó una caída de la lectura del ICC en la última medición, sin embargo, los mayores valores son en el momento de floración, alrededor de los 75 días para estas líneas, por lo que en esta etapa aún no se debería observar esta disminución (Devika *et al.*, 2018), sino hacia el llenado del grano. La caída precoz puede deberse a una entrada prematura a la senescencia por efecto del estrés por disponibilidad del nutrimento.

6.2.2. Índices de vegetación

El registro de índices de vegetación es un buen indicador del estado de las plantas debido a que la reflectancia de las bandas brinda información precisa y rápida sobre las condiciones del follaje. Las plantas con una alta asimilación del nitrógeno tienen una mayor cantidad de clorofila (Lammerts & Struik, 2017), por ello la relación entre contenido de nitrógeno en la hoja y las bandas de luz en el espectro visible (roja, azul y verde) presentan una correlación negativa, cuando se registra menor reflectancia de estas es porque la hoja tiene mayor contenido de nitrógeno (Zhu *et al.*, 2007). En el caso de la banda NIR, el valor de la reflectancia aumenta cuando las condiciones de nitrógeno son favorables, siendo este la sección del espectro de luz que presenta mayor cambio ante deficiencias del nutrimento (de Lima *et al.*, 2021; Din *et al.*, 2017), en este caso se aprovechó esta propiedad en los IV utilizados, que incluye a la banda NIR entre su fórmula.

En los índices se observa que los materiales mutantes tienden a disminuir los valores en la última medición, esto como consecuencia que los materiales se encontraban en la transición a senescencia de las hojas, por lo que se pierden las reservas de carbono en los materiales y se prioriza la fase de maduración del grano, cercana a los días estimados del 50% de floración. En comparación al material testigo donde se observa un aumento constante de los IVs porque en esta última etapa de medición aún no había alcanzado el 50% de floración y el follaje se encontraba aún en un estado vegetativo para generar reservas. El registro en estas etapas considera los materiales senescentes por lo que pudo disminuir el valor promedio de los IVs (Din *et al.*, 2017).

NDVI

El NDVI es el índice con mayor uso, porque tiene la capacidad de determinar la presencia de material vegetal vivo y objetos no fotosintéticos como el suelo. En el estudio se utilizó en forma exitosa para separar la cobertura vegetal del arroz y el suelo dentro de las imágenes registradas. Además, es un indicador del contenido de clorofila debido a que utiliza la banda roja para su cálculo, la cual responde con menor reflectancia cuando hay actividad fotosintética (de Lima *et al.*, 2021).

> El rango del NDVI es entre -1 a 1, donde de -1 a 0 determina la presencia de objetos no fotosintéticos, como suelo, sustratos o vegetación muerta. Los resultados de la primera medición obtuvieron valores cercanos a -0.1, el cual fue el umbral utilizado para distinguir el suelo de la vegetación en esta etapa, debido a que el estado de la cobertura vegetal no fue suficientemente densa para obtener registros precisos. En las mediciones posteriores no se obtuvieron valores negativos, sin embargo, no se encontraron NDVI mayores a 0.05, esto contrasta con los valores para arroz en diferentes dosis de nitrógeno que varían entre 0.4 a 0.7 (Padhan *et al.*,2023)

La totalidad de los materiales registraron menores valores de NDVI en las fertilizaciones al 40% respecto a los del 100%, a pesar de esta tendencia, el testigo y el material UNA-1182 dentro de las mediciones no mostraron diferencias significativas en las dos dosis de fertilizante, contrario a los materiales UNA-1188 y UNA-1199, que en las mediciones II y III tuvieron cambios significativos en comparación a su respuesta al 100%. El NDVI se ha reportado como indicador de la absorción del nitrógeno en la planta (Zha *et al.*, 2020), por ello los valores mayores se relacionan con el uso de nitrógeno que el material tiene capacidad de utilizar, en este caso resalta el desempeño de las líneas en las cuales la reducción de nitrógeno no les generó cambios significativos en los valores.

RVI

En el RVI no se presentaron cambios significativos dentro de los tratamientos a excepción del UNA-1188 y UNA-1199 al 40%. La tendencia de este índice fue aumentar con el avance de las etapas del cultivo. Este índice se ha utilizado como un estimador del índice de área foliar (IAF), contenido de pigmentos fotosintéticos y estado de nitrógeno dentro de la planta (Wei *et al.*, 2012).

El uso de este indicador puede tener la ventaja que en zonas de alta cobertura vegetal presenta mayor sensibilidad a los cambios en reflectancia respecto al NDVI, sin embargo, en estos valores no se evidenciaron cambios drásticos en comparación con el GNDVI o el CIg, por lo que es posible que la cobertura vegetal no fuera densa y debido a la baja lectura de reflectancia en la banda roja los cambios determinados no fueron importantes, siendo determinados por efecto de elementos como el suelo, al cual se ha reportado que este índice tiene menor sensibilidad de discriminación que el NDVI (Wei *et al.*, 2012).

GNDVI

El GNDVI es un indicador estandarizado al igual que el NDVI y se utiliza para estimar la actividad fotosintética, al utilizar las bandas NIR y verde, es un predictor con mayor sensibilidad al contenido de clorofila en la hoja (de Lima *et al.*, 2021). Los valores obtenidos presentaron el rango esperado, sin embargo, las magnitudes fueron entre -0.10 y 0.05, en este caso los mayores valores indican una mayor cantidad de clorofila en las hojas. Por ello el CR5272 (testigo) y el UNA-1199 destacan en su contenido con una fertilización al 100%, sin embargo, al reducir la dosis este último material presenta los menores valores, lo que muestra que es más susceptible a la disponibilidad de N. Aunque al 100% el UNA-1182 es el tercer valor mayor, cuando se cambia la dosis este no presenta diferencias significativas en sus valores de GNDVI.

Este indicador se ha correlacionado con variables como acumulación de nitrógeno en la hoja y en la planta, que se identificó como correlaciones moderadas en la etapa de macollamiento y en el ciclo total. Por otra parte se ha utilizado como estimador de esas dos variables y obtuvo estimaciones con R^2 mayores a 0.8 para ambas en las etapas previo a la floración (Zheng *et al.*, 2018).

GVI

Este índice está considerado como estimador de la producción de hojas y el estrés, reportado en cultivos como el tomate (Cardim *et al.*, 2020). Contrario al comportamiento reportado en tomate, este índice tuvo baja variabilidad en las primeras etapas y hacia la última medición presentó mayores diferencias entre los valores registrados. Los materiales UNA-1188 y UNA-1199 fueron los que presentaron los menores valores al 40% durante las tres mediciones,

considerando que este índice se ha reportado también como un predictor del índice de nutrición de nitrógeno (NNI; nitrogen nutrition index) para cualquiera de las etapas, entonces mostraría que respecto al material testigo estos dos materiales bajo condiciones de nutrición limitada (reducción al 40%) tendría un comportamiento no deseable en líneas seleccionadas para uso eficiente de nitrógeno (Zha *et al.,* 2020).

CIg

El CIg mostró un aumento en la variación de los datos hacia las dos últimas mediciones, con diferencias evidentes en los tratamientos con menor dosis de N. El material UNA-1199 al 40% fue el único tratamiento que mostró disminución del valor hacia la etapa final. Mientras para UNA-1182 aunque entre los materiales al 100% no tuvo una respuesta alta, fue el único material en estudio que registró valores mayores a 0 en las dosis del 40%. Este índice se también se ha reportado como buen estimador de la condición NNI en las plantas de arroz, tanto en la etapa de inicio de floración como al considerar todas las etapas (Zha *et al.,* 2020).

Según el análisis de correlaciones el uso de NDVI, RVI y GNDVI en la primera etapa tiene relaciones moderadas con los valores de ICC registrados, a pesar de ello, se obtuvo con los ICC que en esta etapa el cultivo no presenta evidencias de estrés por nitrógeno, por lo que para la determinación del estado de nutricional del cultivo no sería una etapa adecuada para su estimación. En la segunda medición, los coeficientes de correlación fueron menores a 0.5, por lo que no se recomienda el uso de estos cinco IVs para determinar un comportamiento relacionado al nitrógeno en la planta durante esta etapa. En la última medición, solo el RVI se correlaciona en forma moderada (R^2 entre 0.5 a 0.7) a pesar que a nivel de ICC se presentan variaciones que no fueron explicadas por los otros IVs.

Los IVs mostraron una alta correlación con el ICC cuando se consideró todo el ciclo evaluado, los R^2 indicaron que en términos generales los IVs son útiles para comparar la respuesta de las líneas a lo largo del período. Se ha reportado que la calidad de estos índices para estimar de las variables asociadas al nitrógeno mejora al considerar todas las etapas, el GNDVI destaca en la estimación de acumlación de N en la parte aérea (Zheng *et al.,* 2018), el RVI con el IAF (Din *et al.,* 2017; Wei *et al.,* 2012) y el CIg con el NNI (Zha *et al.,* 2020).

6.2.3. Etapas fenológicas

Los días a floración estimados para los materiales mutantes coinciden con el ciclo reportado de CR5272, usado como testigo (ONS, 2020), sin embargo, en este ensayo el material testigo en forma independiente a la fertilización, mostró un período a floración de entre 90 a 116 días, alrededor de 15 a 30 días posteriores a los materiales mutantes.

Por otra parte, el período de cosecha para los materiales mutantes se realizó en el rango reportado para el CR5272, donde a los 110 días los materiales se encontraron con el grano maduro. Sin embargo, el comportamiento del material testigo en el ensayo no coincidió porque inclusive su período estimado y según las observaciones en campo inició su floración en períodos donde se ha reportado la cosecha, además en el momento de cosecha para estos tratamientos a los 118 días aún no se consideró que las microparcelas contaran con el 90% de grano maduro, lo que influyó en el rendimiento.

En Andrés *et al*,(2009) se reportó un material de arroz (s73) irradiado con rayos gamma que perdió la sensibilidad al fotoperíodo debido a una mutación en el gen "PHOTOPERIOD SENSITIVITY5" (SE5), relacionada a la regulación de la respuesta de los fitocromos a la luz. La ausencia de este gen debido a una mutación deletérea, produce que el inicio de floración en este material se adelantara 28 días de la media de los otros materiales, tanto en exposición de fotoperíodos de día largos y cortos. En este estudio no se puede atribuir este patrón a una mutación específica, porque fue compartido en tres materiales genéticos distintos, además que los períodos han sido reportados para la variedad utilizada para inducir la mutación.

Otro factor es la disponibilidad de N, que en condiciones limitantes de este nutrimento el ciclo fenológico se reduce hasta en 16 días (Padhan *et al.,* 2023), sin embargo, los cambios en los períodos de floración y cosecha observados estuvieron relacionados al material y no a la fertilización, dado que el cambio no se presentó con la disminución de la dosis.

6.3. Variables de rendimiento

Rendimiento

Los materiales que resaltaron en rendimiento fueron el UNA-1182 y UNA-1188, el primero en ambas dosis de N y el segundo cuando la dosis fue al 100%. En ensayos anteriores realizados por BIOVERFI para estas mismas líneas, el UNA-1182 se identificó como el material con mayor acumulación de nitrógeno en el grano y en la parte aérea, mientras el UNA-1199 tuvo mayor eficiencia de recuperación de nitrógeno y traslocó un 25% de N al grano (Delgado-Delgado *et al.*, s.f, datos no publicados).

Por otra parte, esos ensayos reportaron al material testigo con la menor capacidad de acumulación y N en el grano (Delgado-Delgado *et al.,* s.f, datos no publicados), las diferencias para los rendimiento para el testigo obtenidos en este estudio se afectaron debido a que los materiales se cosecharon a los 118 d, en este momento no se consideraban con el 90% de maduración de grano, siendo en su mayoría grano en estado lechoso y por ende el grano no se desprendió de la panícula durante la cosecha.

El rendimiento es dependiente de la disponibilidad, absorción y distribución de nitrógeno en la planta, por lo que hay una relación positiva entre el aumento de la dosis de nitrógeno y el aumento del rendimiento (Fageria *et al.,* 2011; Wang *et al.,* 2021). En la etapa de llenado de grano se realiza una translocación de los nutrientes de las hojas hacia el grano y previo a esta etapa hay una demanda más alta del nutrimento.

La mayor capacidad del UNA-1182 de acumular nitrógeno en la parte aérea le puede permitir realizar una translocación de mayor cantidad nutriente hacia los granos cuando inicia la etapa de llenado, por lo que se obtiene un rendimiento más alto a pesar del estrés por baja condición de N (Mu & Chen, 2021), en contraste, el UNA-1199 tiene menor capacidad de acumulación y requiere más cantidad de N para completar el llenado del grano, esto provoca que sea más sensible ante la disponibilidad de N y se refleja en menores rendimientos.

Los mayores rendimientos obtenidos en este ensayo no superaron las 2.0 tm/ha, se debe considerar que el rendimiento nacional promedio de arroz en granza limpia y seca se reportó en 4.2 tm/ha para el período 2022-2023 (Control Estadístico Arrocero, 2023). Esto indica que los tres materiales en estudio, representan apenas el 50% del potencial de rendimiento que ofrecen otras variedades en la actualidad. Las tres variedades más utilizadas en el período 2022-2023, Lazarroz

FL, Sen-1/Esperanza FL y Senumisa 20 FL, reportan un rango de rendimiento potencial entre 5 a 8.5 tn/ha (ONS, 2020).

Biomasa

Los valores de biomasa presentaron un rango esperado para materiales de arroz, sin embargo, no se mostró un patrón definido de respuesta a N, debido a que UNA-1199 en la dosis de nitrógeno reducida logró acumular mayor cantidad de biomasa que los materiales al 100%, inclusive el este material genético. En Aguilar *et al.* (2018) la biomasa aumentó conforme se aumentó la dosis de N, lo cual fue el patrón para CR5272, UNA-1182 y UNA-1188, siendo el segundo el de mayor incremento con la mayor dosis de nitrógeno.

En plantas con estrés por baja disponibilidad de N se han registrado disminuciones de hasta 24.2% en la materia seca acumulada, debido a la insuficiencia del nutrimento para generar componentes estructurales (Liang *et al.*, 2015). Este comportamiento se reporta en Fageria *et al.* (2011), sin embargo, adicionalmente encontraron que los materiales en restricción total de fertilizante nitrogenado mostraron una tendencia a acumular mayor cantidad de biomasa en las hojas y los tallos, por lo que la relación no es lineal hacia los extremos de la curva. Esto se puede deber a que por el estrés nutricional se desencadena la deposición de nitrógeno en funciones estructurales y de almacenamiento, limitando los componentes para la fotosíntesis, lo que implica un detrimento de los rendimientos (Yang *et al*., 2014).

En programas de mejoramiento genético se está dando importancia a las características como la materia seca acumulada y la distribución de esta hacia el grano en el momento de llenado de grano, porque se ha observado que pueden influir directamente en el rendimiento del material. (Wang *et al.*, 2021)

Longitud de panícula

La longitud de panícula no presentó cambio significativos para ninguno de los factores ni para su interacción, esta situación se reporta en las investigaciones con cambios menores a 1 cm entre tratamientos con bajas dosis de nitrógeno y dosis recomendadas (Feng *et al.*, 2015), por ello se podría deducir que es independiente del nitrógeno disponible en el ambiente.

Se ha estudiado los genes relacionados a la regulación de la expresión de la longitud de panícula, entre ellos el más destacado es el OsPIN5b, una proteína presente en el retículo endoplasmático de células vegetales. La función de OsPIN5 es la regulación y transporte de la auxinas, fitohormonas encargadas del crecimiento, por lo que al reducir su expresión se han observado efectos como una mayor longitud de la panícula (Zeng *et al.*, 2020). Las ventajas reportadas para las longitudes de panícula de los individuos mutantes en fueron incrementos de 25 a 30% de granos por panícula y mayor cantidad de panículas por planta, sin afectar el peso de los granos (Zeng *et al.*, 2020).

En la investigación se reportan longitudes entre 22.6 y 19.8 cm para las plantas con la proteína mutante y el testigo de 18.3, sin embargo, en comparación con los resultados obtenidos el rango de todos los materiales genéticos fue entre 18.9 y 21.6 cm, dentro del rango de las plantas con este gen mutante, por lo que podría tener ventajas respecto a otros materiales, pero en el estudio no se evidenció esta diferencia.

Esterilidad

Los materiales mutantes reportaron promedios entre 18 a 21% de esterilidad, sin embargo, el material testigo superó el 25% de granos vanos para ambas fertilizaciones. Aguilar *et al.*,(2018) mostraron que los porcentajes mayores de esterilidad encontrados fueron de 18% en una dosis de cero N y Fageria *et al.* (2011) una esterilidad promedio de 16%, por lo que los valores de las líneas mutantes están dentro de un rango promedio para el arroz en diferentes tratamientos de N.

La tendencia de los materiales de arroz es presentar mayores valores de esterilidad cuando tienen una mayor disponibilidad de N, mientras cuando están limitados del nutrimento la esterilidad disminuye (Wang *et al.*, 2021). El material testigo mostró la particularidad que en el momento de cosecha este no se consideró como un lote maduro (90% grano maduro), por lo que aparte de mostrar un menor rendimiento, los granos recolectados no habían completado su llenado por lo que su reporte de esterilidad es el más alto en ambas dosis de fertilizante.

Peso 100 granos

El peso de 100 granos no presentó diferencias entre los materiales mutantes, ni el efecto por la fertilización nitrogenada. Esta característica es estable dentro de cada variedad, por ello las variaciones en las dosis de N no se reflejarán en cambios del peso del grano, en cambio, las

diferencias significativas entre pesos se reportan al comparar materiales genéticos distintos (Feng *et al.,* 2015; Wang *et al*., 2017).

En Fangoria *et al.* (2011), se detectó que el peso de los granos se afectó cuando se expuso a dosis de cero nitrógeno y en dosis de exceso de nitrógeno, por encima de los 300kgN/ha, por lo que los mejores valores se encontraron en los tratamientos de dosis intermedias (75 a 200 kgN/ha), donde no se observó variación por la fertilización. El material UNA-1188 presentó el mayor peso de grano, esto coincide con los reportes previos de ensayos de BIOVERFI donde se registró el mismo comportamiento, porque este material acumuló el 40% del N de la parte aérea en el grano, aunque también se reporta a UNA-1182 y UNA-1199 con 39% y 38%, en comparación al testigo con 30%. (Delgado-Delgado *et al.,* s.f, datos no publicados).

6.4. Selección de la línea mutante

En los cuatro parámetros de selección definidos: rendimiento, peso de 100 granos, altura e ICC en la tercera medición se identificó a la línea UNA-1182 como el material genético con mejor desempeño en comparación al testigo, con las cuales se obtuvieron diferencias significativas hacia una respuesta positiva en comparación al material de origen (CR5272). En la selección de líneas con uso eficiente de nitrógeno se prefieren aquellas que logran producir rendimientos mayores a otros materiales en bajas dosis del nutrimento (Devika *et al.,* 2018), como lo fue en el caso de esta línea.

Por otra parte, la evaluación de los cambios dentro de la línea permite conocer cuáles materiales podrían presentar la capacidad de tener una respuesta similar en ambas dosificaciones. Lammerts & Struik, (2017) mencionan que la eficiencia en el uso de nitrógeno se podrían expresar mejor en algunos materiales cuando se exponen a baja disponibilidad del nutrimento, por ello, se buscaría que las líneas tengan un desempeño deseablemente similar en ambas dosis, con un cambio porcentual bajo. En el material UNA-1199 se mostró este comportamiento en la biomasa, donde la exposición a una menor dosis incrementó la deposición de biomasa en 168%, pero las variables restantes no tuvieron una buena respuesta a los cambios en la dosis.

En el caso del material UNA-1182, los cambios porcentuales fueron menores en la mayoría de las variables a excepción de la biomasa y esterilidad, esto implica que este material tiene la

capacidad de tener un desempeño similar con 200 kgN/ha (100% de la dosis) u 80 kgN/ha (40% de la dosis). Utilizar dosis de nitrógeno mayores a 80 kgN/ha sin llegar al 100% de la dosis, podría reducir estos cambios porcentuales y tener un material con un desempeño igual a si recibiera una dosis completa. La característica de estabilidad antes cambios de N, es deseable para la selección de líneas de arroz (Wang *et al.*, 2021). En contraste, el material UNA-1188, muestra un comportamiento destacable en las variables cuando se encuentra con el 100% de la dosis, pero al reducirla la disminución de los valores en la totalidad de las variables muestra que es un material genético más sensible a la disponibilidad de nitrógeno en el entorno.

El análisis de componente principales respalda la selección de la línea UNA-1182, debido a que muestra una agrupación de los datos en condiciones positivas de peso de 100 granos, rendimiento, longitud de panícula, índices de clorofila, mientras los otros dos materiales mutantes no presentaron un comportamiento definido hacia estas variables debido al efecto de la dosis de fertilización nitrogenada. Mientras el material testigo tuvo datos agrupados hacia mayores valores de esterilidad, menores valores de rendimiento y peso de granos.

7. CONCLUSIONES

En la respuesta morfológica, el UNA-1182 obtuvo mayor altura, sin embargo, la clasificación varietal se mantuvo para los materiales como plantas semienanas y con macollamiento escaso y débil. En la respuesta fisiológica, los ICC muestran diferencias en las dos últimas mediciones debido a que son las etapas de mayor demanda de N en el cultivo de arroz, con una tendencia a disminuir los valores de ICC con la reducción de la dosis del nutrimento.

Los índices de vegetación fueron indicadores del estado de nitrógeno en la planta, estos mostraron valores menores en los tratamientos al 40% de la dosis. Además permitieron detectar que los materiales UNA-1188 y UNA-1199 tienen los mayores cambios al reducir la dosis de N. Los IVs estudiados presentaron coeficientes de correlación más altos con los ICC cuando se consideraron todas las etapas y en etapas particulares solo destacó el RVI a los 63 ddg.

En el rendimiento, resaltó el UNA-1182 entre los materiales mutantes. Los valores reportados son menores a 2000 kg/ha de arroz limpio en granza, por lo que no representan líneas competitivas con las variedades disponibles actualmente en el país. En cuanto a los componentes de rendimiento se evidenció que los materiales mutantes conservaron comportamientos determinados por su material de origen, por ello no se detectaron variaciones en la longitud de panícula ni el peso de 100 granos y la esterilidad para las líneas mutantes presentó valores esperados para el cultivo de arroz.

De acuerdo a la respuesta en las variables estudiadas, el material UNA-1182 presenta un comportamiento con diferencias positivas respecto al material testigo CR5272 y registró los menores cambios porcentuales con la disminución de N que muestra la estabilidad ante la variación de la disponibilidad del nutrimento, por ello es el material seleccionado para dar continuidad a los procesos de investigación en mejoramiento genético.

8. RECOMENDACIONES

A pesar que el material UNA-1182 tiene potencial debido a su respuesta a bajas dosis de fertilizante nitrogenado, se deben ensayos en dosis crecientes de nitrógeno para mejorar los rendimientos por área, hasta obtener valores competitivos con las variedades de arroz disponibles en el país. En caso contrario, debería valorarse la utilización de materiales de arroz con mayores rendimientos para replicar el proceso de mejoramiento genético porque se observó que se mejoran la respuesta en bajas dosis de nitrógeno y se mantuvieron los rasgos del material inicial.

En las próximas etapas del ensayo del material UNA-1182 es relevante considerar la aplicación de fertilizaciones foliares, debido a que pueden influir en forma positiva en la respuesta agronómica, principalmente, el rendimiento; ya que esta se omitió en el presente estudio para controlar la dosis de nitrógeno aplicada.

Aplicar el monitoreo de estado nutricional del cultivo de arroz mediante técnicas no destructivas como el índice de contenido de clorofila y los índices de vegetación, los cuales mostraron tener correlaciones en la consideración del período evaluado. Ante esto, se debe promover la capacitación técnica de estas herramientas y aplicación de nuevos índices de vegetación, para establecer modelos de estimación del estado de nitrógeno en las plantas con información ajustada a las condiciones de la región y el cultivo.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acevedo Barona, M. A., Salazar, M., Castrillo Fuentes, W. A., Torres Angarita, O. J., Reyes Ramone, E. R., Navas, M., Álvarez, R., Moreno, O y Torres Toro, E. (2011). Efectos de la densidad de siembra y fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de granos de arroz del cultivar centauro en Venezuela. *Agronomía Tropical*, 61(1), 15-26.

Adhikari, K., Bhandari, S. & Acharya, S. (2021). An overview of Azolla in rice production: a review. *Reviews in Food and Agriculture*, 2(1), 4-8.

Aguilar, E. C. H., Villacorta, H. S., & Peralta, G. S. (2018). Incorporación de nitrógeno para mejorar la eficiencia de uso del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en La Libertad, Perú. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenibl*e, 7, 41-56.

Alfonso, N., España, M., López, M., Cabrera, E., Abreu, P. (2011). Eficiencia de uso del nitrógeno en arroz de secano en un suelo ácido del occidente del Estado Guárico. *Agronomía Tropical*, 61(3-4): 215-220.

Álvarez, C., Navarro, J. A., Molina-Heredia, F. P., & Mariscal, V. (2020). Endophytic Colonization of Rice (*Oryza sativa* L.) by the Symbiotic Strain *Nostoc punctiforme* PCC 73102. *Molecular plant-microbe interactions* : MPMI, 33(8), 1040–1045. doi: 10.1094/MPMI-01-20-0015-SC

Andrés, F., Galbraith, D. W., Talón, M., & Domingo, C. (2009). Analysis of PHOTOPERIOD SENSITIVITY5 sheds light on the role of phytochromes in photoperiodic flowering in rice. *Plant physiology*, 151(2), 681-690.

Argüello, J.F., Orozco, R., Fernández, A., Sáenz, A., Madriz, M., Navarro, W., Abdelnour, A., Pérez, J., Rojas, M., Vargas, W. & Gatica, A. (2021). Costa Rica: Aumento de la variabilidad genética en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) en de los Santos, S. (Ed.). *Inducción de mutaciones: Estado del conocimiento en el mejoramiento de plantas en América Latina y el Caribe* (1ª ed., pp. 45-66). Fontamara.

Arias-Badilla, J.G., Esquivel-Segura, E.A. & Campos-Rodríguez, R. (2020). Evaluación de la densidad de siembra y nivel de fertilización en arroz, para las variedades Palmar-18, Lazarroz FL y NayuribeB FL, en Parrita (Pacífico Central), Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 33(3), 13-24.

Bagheri, N., Ahmadi, H., Alavipanah, S. K., & Omid, M. (2013). Multispectral remote sensing for site-specific nitrogen fertilizer management. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(10), 1394-1401.

Banco Mundial. (2023). *Food Security Update, november 2023.* https://thedocs.worldbank.org/en/doc/40ebbf38f5a6b68bfc11e5273e1405d4-0090012022/related/Food-Security-Update-XCV-11-9-23.pdf

Bertsch, F. (2003). *Absorción de los nutrimentos por los cultivos.* 1ª ed. Asociación Costarricense de Ciencias del Suelo (ACCS). San José: Costa Rica. 307 p.

Cárdenas-Navarro, R., Sánchez-Yáñez, J. M., Farías-Rodríguez, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2004). Los aportes de nitrógeno en la agricultura. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 173-178.

Cardim, M., Krus, A., Valero, C., Barrientos, A., Del Cerro, J., & Roldán-Gómez, J. J. (2020). Monitoring plant status and fertilization strategy through multispectral images. *Sensors*, 20(2), 1-21. doi:10.3390/s20020435

Centro Estadístico Arrocero. Corporación Arrocera Nacional [CONARROZ]. (2021). *Informe Anual Estadístico 2021*. Archivo de PDF. https://www.conarroz.com/userfile/file/Informe_anual_estad%C3%ADstico2020-2021.pdf

Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT]. (1983). Sistema de Evaluación Estándar para Arroz (M. Rosero, Trans). (2ª ed.). Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Control Estadístico Arrocero. Corporación Arrocera Nacional [CONARROZ]. (2023). *Informe Anual Estadístico 2022-2023*. Archivo de PDF. https://www.conarroz.com/userfile/file/Operaciones/Informeanualestad%C3%ADstico22-23.pdf

de Lima, I. P., Jorge, R. G., & de Lima, J. L. P. (2021). Remote sensing monitoring of rice fields: Towards assessing water saving irrigation management practices. *Frontiers in Remote Sensing*, 2, 762093.

Delgado-Delgado, V., Orozco-Rodríguez, R., Argüello-Delgado, F., Madriz-Martínez, M. & Fernández-Acuña, A. (s.f.). *Evaluación de la eficiencia en el uso de fertilización nitrogenada de mutantes promisorios de arroz (Oryza sativa L.) mediante la utilización de*

la técnica isotópica con 15N. [Informe técnico inédito]. Biotecnología Vegetal y Recursos Genéticos para el Fitomejoramiento (BIOVERFI). Universidad Nacional, Heredia.

Devika, S., Ravichandran, V., & Boominathan, P. (2018). Physiological analyses of nitrogen use efficiency and yield traits of rice genotypes. *Indian journal of plant physiology*, 23, 100-110.

Din, M., Zheng, W., Rashid, M., Wang, S., & Shi, Z. (2017). Evaluating hyperspectral vegetation indices for leaf area index estimation of Oryza sativa L. at diverse phenological stages. *Frontiers in plant science*, 8, 237162. doi.org/10.3389/fpls.2017.00820

Fageria, N. K., Moreira, A., & Coelho, A. M. (2011). Yield and yield components of upland rice as influenced by nitrogen sources. *Journal of Plant nutrition*, 34(3), 361-370.

Feng, H., Fan, X., Miller, A.J. & Xu, G. (2020). Plant nitrogen uptake and assimilation: regulation of cellular pH homeostasis. *Journal of Experimental Botany,* 71(15), 4380-4392.

Feng, Y., Zhai, R., Lin, Z., Cao, L., Wei, X. & Cheng, S. (2015). Quantitative trait locus analysis for rice yield traits under two nitrogen levels. *Rice Science,* 22(3), 108-115. doi.org/10.1016/j.rsci.2015.05.014

Gómez, M., Orlando, M., Ogawa, S., Lu, Y., Wu, L., Downs, C., Skinner, W., Lu, Z., Kridi, J.C., Ishitani, M. & Boxtel, J. (2017). Development and field performance of nitrogen use efficient rice lines for Africa. *Plant Biotechnology*, 15, 775-787. doi: 10.1111/pbi.12675

Guan, S., Fukami, K., Matsunaka, H., Okami, M., Tanaka, R., Nakano, H., Sakai, T., Nakano, K., Ohdan, H & Takahashi, K. (2019). Assessing correlation of high-resolution NDVI with fertilizer application level and yield of rice and wheat crops using small UAVs. *Remote Sensing*, 11(2), 1-19. doi:10.3390/rs11020112

Hernández-Soto, A., Echeverría-Beirute, F., Abdelnour-Esquivel, A., Valdez-Melara, M., Boch, J., & Gatica-Arias, A. (2021). Rice breeding in the new era: Comparison of useful agronomic traits. *Current Plant Biology*, 27, 1-15. https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100211

Hu, B., Wang, W., Chen, J., Liu, Y., & Chu, C. (2023). Genetic improvement toward nitrogen-use efficiency in rice: Lessons and perspectives. *Molecular Plant*, 16(1), 64-74.

Jennings, P. R., Coffman, W. R., & Kauffman, H. E. (1981). *Mejoramiento de arroz*. Centro Internacional de Agricultura Tropical [CIAT].

Jinwen, L., Jingping, Y., Pinpin, F., Junlan, S., Dongsheng, L., Changshui, G., & Wenyue, C. (2009). Responses of rice leaf thickness, SPAD readings and chlorophyll a/b ratios to different nitrogen supply rates in paddy field. *Field Crops Research*, 114(3), 426-432.

Kant, J., Ishizaki, T., Pariasca-Tanaka, J., Rose, T., Wissuwa, M. & Watt, M. (2018). Phosphorus Efficient Phenotype of Rice. En: Shah, F., Khan, Z. & Iqbal, A. (Eds). *Rice Crops-Currents Developments*, 129-148.

Kharuf-Gutierrez, S., Orozco-Morales, R., Aday, O., & Pineda, E. (2018). Multispectral aerial image processing system for precision agriculture. *Sistemas & Telemática*, 16(47), 45-58. doi:10.18046/syt.v16i47.3221

Lammerts, E.J. & Struik, P.S. (2017). Diverse concepts of breeding for nitrogen use efficiency. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5), 1-24.

Liang, Z., Bao, A., Li, H., & Cai, H. (2015). The effect of nitrogen level on rice growth, carbon-nitrogen metabolism and gene expression. *Biologia*, 70(10), 1340-1350.

Liu, L., Sadras, V., Xu, J., Hu, C., Yang, X. & Zhang, S. (2021). Genetic improvement of crop yield, grain protein and nitrogen use efficiency of wheat, rice and maize in China. *Advances in Agronomy*, 168, pp. 203-252. https://doi.org/10.1016/bs.agron.2021.02.005

Moharana, S. & Dutta, S. (2016). Spatial variability of chlorophyll and nitrogen content of rice from hyperspectral imagery. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 122, 17-29.

Molina, E. y Rodríguez, J.H. (2012). Fertilización con N, P, K y S, y curvas de absorción de nutrimentos en arroz var. CFX 18 en Guanacaste. *Agronomía Costarricense*, 36 (1), 39-51.

Mu, X. & Chen, Y. (2021). The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 76-82.

Neeraja, C. N., Voleti, S. R., Subrahmanyam, D., Surekha, K., & Rao, P. R. (2019). Breeding rice for nitrogen use efficiency. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 79(1), 208-215.

Oficina Nacional de Semillas [ONS]. (2020). *Características varietales de arroz (Julio, 2020).* [Archivo xls]. https://ofinase.go.cr/wp-content/uploads/rvc_arroz_caracteristicasvarietales_2020-07-1.xlsx-1.xlsx

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022a). FAOSTAT: *Crops and livestocks products: Rice*. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2023). *Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets* – November 2023. Roma. https://doi.org/10.4060/cc8589en

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022b). *FAOSTAT*: *Fertilizantes por nutrientes.* https://www.fao.org/faostat/es/#data/RFN/visualize

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022c). *Evolución de los Mercados Mundiales de Fertilizantes*. https://www.fao.org/3/nj408es/nj408es.pdf

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2020). *State of knowledge of soil biodiversity – Status, challenges and potentialities, Summary for policy makers*. Roma, FAO. https://doi.org/10.4060/cb1929en

Organización Internacional de Energía Atómica [OIEA]. (2018). Mejoramiento de los cultivos por inducción de mutaciones. Notas informativas del OIEA. https://www.iaea.org/sites/default/files/19/06/mutation-breeding-for-crop-improvement-sp.pdf

Organización Internacional de Energía Atómica [OIEA]. (2022). *Mutant Variety Database*. https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Home.aspx

Organización Internacional de Energía Atómica [OIEA]. (s.f). *Inducción de mutaciones*. https://www.iaea.org/es/temas/induccion-de-mutaciones#:~:text=Para%20inducir%20artificialmente%20cambios%20hereditarios,fin%20de%20generar%20mutaciones%20hereditarias.

Padhan, B. K., Sathee, L., Kumar, S., Chinnusamy, V., Krishnan, S. G., & Kumar, A. (2023). Nitrogen dose dependent changes in leaf greenness, crop phenology, grain nitrogen content and yield in rice (*Oryza sativa* L.) sub-species. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 83(02), 176-184.

Saavedra, D., Cubillos, A., Machado, L., Murcia, V. y Méndez, D.A. (2018). Análisis de índices de vegetación en el cultivo de arroz en la finca La Tebaida del municipio de Campoalegre. *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura*, 5, 19-28.

Saito, K., Asai, H., Zhao, D., Laborte, A. G., & Grenier, C. (2018). Progress in varietal improvement for increasing upland rice productivity in the tropics. *Plant Production Science*, 21(3), 145-158.

Taiz, L. & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*. 5ª ed. Sinauer Associates. Massachusetts: Estados Unidos.

Torres, A., Héctor, E., Cué, J. y Cevallos, M. (2018). *Fisiología Vegetal Volumen I: nutrición hídrica y mineral de las plantas*. 1ª ed. Ediciones Universidad Técnica de Manabí. Manabí: Ecuador.

Vargas, R. y Gutiérrez, A. (2019). *Valuación de los costos de la producción de arroz en granza*. Dirección de Investigaciones Económicas y de Mercados. Ministerio de Economía e Industria. http://reventazon.meic.go.cr/informacion/estudios/2019/arroz/DIEM-INF-003-19.pdf

Vignola, R., Poveda, K., Watler, W., Vargas, A., Berrocal, Á. y Morales, M. (2018). *Prácticas Efectivas para la Reducción de impacto por eventos climáticos en Costa Rica: Cultivo de Arroz.* http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/reduccion-impacto-por-eventos-climaticos/Informe-final-Arroz.pdf

Wang, W., Wu, Y., Zhang, Q., Zheng, H., Yao, X., Zhu, Y., Cao, W. & Cheng, T. (2021). AAVI: A Novel Approach to Estimating Leaf Nitrogen Concentration in Rice From Unmanned Aerial Vehicle Multispectral Imagery at Early and Middle Growth Stages. *IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing*, 14, 6716-6728. doi: 10.1109/JSTARS.2021.3086580

Wang, Y. P., Chang, Y. C., & Shen, Y. (2022). Estimation of nitrogen status of paddy rice at vegetative phase using unmanned aerial vehicle based multispectral imagery. *Precision Agriculture*, 23(1), 1-17. doi: 10.1007/s11119-021-09823-w

Wang, Y., Lu, J., Ren, T., Hussain, S., Guo, C.,Wang, S., Cong, R. & Li, X. (2017). Effects of nitrogen and tiller type on grain yield and physiological responses in rice. *AoB Plants*, 9, 2-14. doi:10.1093/aobpla/plx012

Wei, W., Xia, Y., Tian, Y. C., Liu, X. J., Jun, N. I., Cao, W. X., & Yan, Z. H. U. (2012). Common spectral bands and optimum vegetation indices for monitoring leaf nitrogen accumulation in rice and wheat. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(12), 2001-2012.

Xiong, Q., Tang, G., Zhong, He, H. & Chen, X. (2018). Response to nitrogen deficiency and compensation on physiological characteristics, yield formation, and nitrogen utilization of rice. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-14. doi: 10.3389/fpls.2018.01075

Yang, H., Yang, J., Lv, Y. & He, J. (2014) SPAD Values and Nitrogen Nutrition Index for the Evaluation of Rice Nitrogen Status. *Plant Production Science*, 17(1), 81-92, DOI: 10.1626/pps.17.81

Yang, H., Yang, J. P., Li, F. H., & Liu, N. (2018). Replacing the nitrogen nutrition index by SPAD values and analysis of effect factors for estimating rice nitrogen status. *Agronomy Journal*, 110(2), 545-554.

Yu, J., Xuan, W., Tian, Y., Fan, L., Sun, J., Tang, W., Chen, G., Wang, B., Liu, Y., Wu, W., Liu, X., Jiang, X., Zhou, C., Dai, Z., Xu, D., Wang, C & Wan, J. (2020). Enhanced OsNLP4-OsNiR cascade confers nitrogen use efficiency by promoting tiller number in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 19(1), 167-176.

Yuan, Z., Cao, Q., Zhang, K., Ata-Ul-Karim, S. T., Tian, Y., Zhu, Y., Coa, W. & Liu, X. (2016). Optimal leaf positions for SPAD meter measurement in rice. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-10.

Yue, X., Hu, Y., Zhang, H., & Schmidhalter, U. (2020). Evaluation of both SPAD reading and SPAD index on estimating the plant nitrogen status of winter wheat. *International Journal of Plant Production*, 14(1), 67-75.

Zha, H., Miao, Y., Wang, T., Li, Y., Zhang, J., Sun, W., Feng, Z. & Kusnierek, K. (2020). Improving unmanned aerial vehicle remote sensing-based rice nitrogen nutrition index prediction with machine learning. *Remote Sensing*, 12(2), 215.

Zeng, J. Wen, W. Zhao, Q. Wang, W. Huang Rational improvement of rice yield and cold tolerance by editing the three genes OsPIN5b, GS3, and OsMYB30 with the CRISPR–Cas9 system. *Frontiers in Plants Sciences*., 10, 1-13, doi: 10.3389/fpls.2019.01663.

Zheng, H., Cheng, T., Li, D., Zhou, X., Yao, X., Tian, Y., Cao, W. & Zhu, Y. (2018). Evaluation of RGB, color-infrared and multispectral images acquired from unmanned aerial systems for the estimation of nitrogen accumulation in rice. *Remote Sensing*, 10(6), 824.

Zhu, Y., Tian, Y., Yao, X., Liu, X., & Cao, W. (2007). Analysis of common canopy reflectance spectra for indicating leaf nitrogen concentrations in wheat and rice. *Plant production science*, 10(4), 400-411.

10. ANEXOS

Anexo 1 Plan de fertilización

Fuente	Aplicación (g/microparcela 6m2)			
	Siembra/5 d (28%)	15	35 (32%)	55 (40%)
Dosis 200 kgN/ha				
10-30-10	135	-	-	-
KCl	-	-	58.5	-
Urea (0.28; 0.32	-	46	83.5	104.5
Dosis 80 kgN/ha				
10-30-10	135	-	-	-
KCl	-	-	58.5	-
Urea (0.28; 0.32	-	-	33.5	41.7

Anexo 2 Altura y macollamiento promedio de los tratamientos por material y dosis de fertilizante nitrogenado.

Tratamiento	Altura (cm)		Macollamiento (macollas/planta)	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
T1	62,0	2,47	5,4	1,18
T2	67,0	1,48	5,6	1,00
T3	66,7	2,42	5,2	1,02
T4	65,0	2,39	5,4	0,97
T5	59,8	2,43	5,0	0,57
T6	64,6	4,48	4,8	1,11
T7	61,7	2,80	4,6	0,34
T8	61,0	3,31	4,3	0,93

Anexo 3 Tabla de contenido de clorofila obtenido por SPAD en las tres etapas fenológicas según tratamiento.

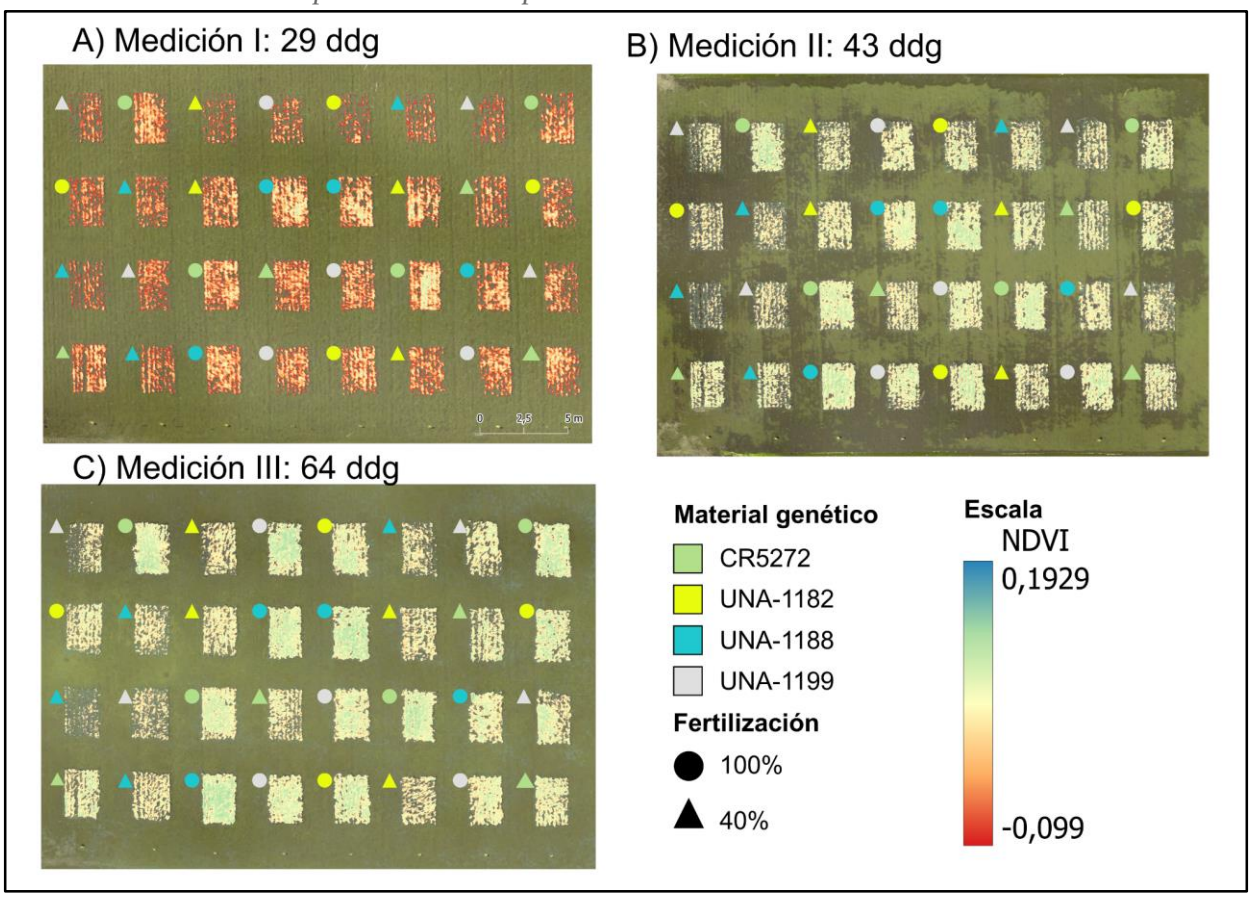
	Índice de clorofila					
Día de medición	**29 d**		**43 d**		**64 d**	
Tratamiento	**Media**	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**
T1	32,0	2,01	38,6	0,91	39,5	1,28
T2	33,3	3,74	41,5	2,08	41,6	1,15
T3	34,6	1,68	40,9	1,35	41,1	1,18
T4	31,6	1,86	40,9	2,82	38,9	1,37
T5	31,8	1,94	36,4	1,99	35,0	1,67
T6	32,5	1,87	39,8	0,53	37,6	1,26
T7	30,5	1,01	36,7	2,30	37,7	2,76
T8	28,7	1,33	36,5	2,75	38,0	2,05

Anexo 4 Tabla de promedios de rendimiento y componentes de rendimiento.

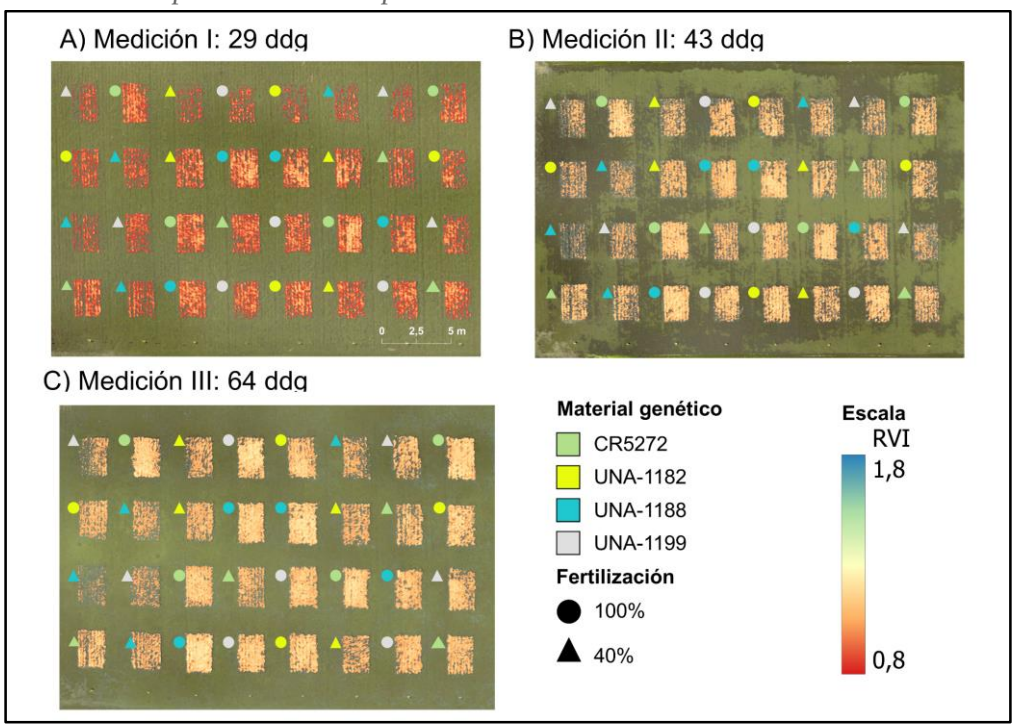
Tratamiento	**Rendimiento (kg/ha)**		**Biomasa (g)**		**Longitud de panícula (cm)**		**Peso de 100 granos (g)**		**Esterilidad (%)**	
	Media	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**	**Media**	**Desv. est.**
T1	931,0	284,4	4,1 b*	0,62	21,1	1,5	2,008	0,100	28	10,7
T2	1954,1	333,0	7,3 a	4,28	21,6	1,5	2,301	0,050	18	1,5
T3	1977,1	601,0	3,9 b	1,35	21,1	1,0	2,319	0,050	21	1,5
T4	1686,9	686,1	2,5 b	0,48	19,8	1,4	2,308	0,060	20	4,0
T5	1297,0	256,0	2,4 b	1,02	18,9	0,7	1,890	0,120	26	5,7
T6	1988,0	721,8	2,8 b	0,91	20,4	1,0	2,277	0,050	19	0,8
T7	1659,2	193,1	3,2 b	0,83	19,3	0,7	2,311	0,020	21	4,6
T8	1391,8	489,2	6,7 a	4,08	19,9	0,8	2,254	0,100	20	5,3

*Las letras distintas muestran diferencias significativas ($p<0.05$).

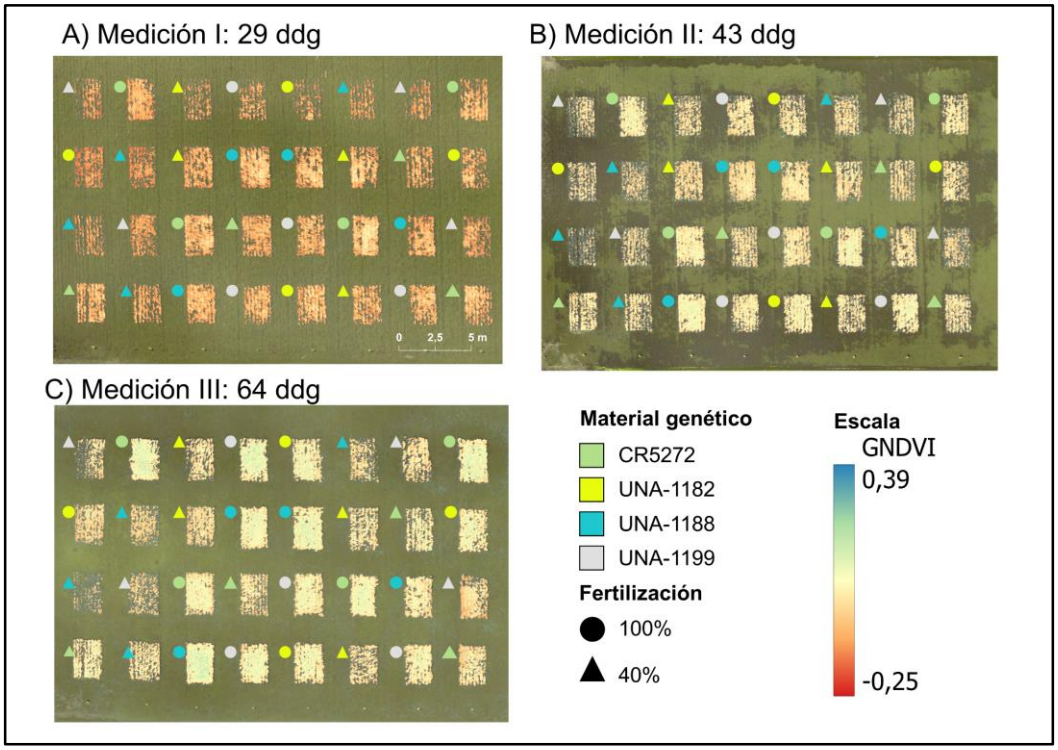
Anexo 5 Valores de NDVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición.



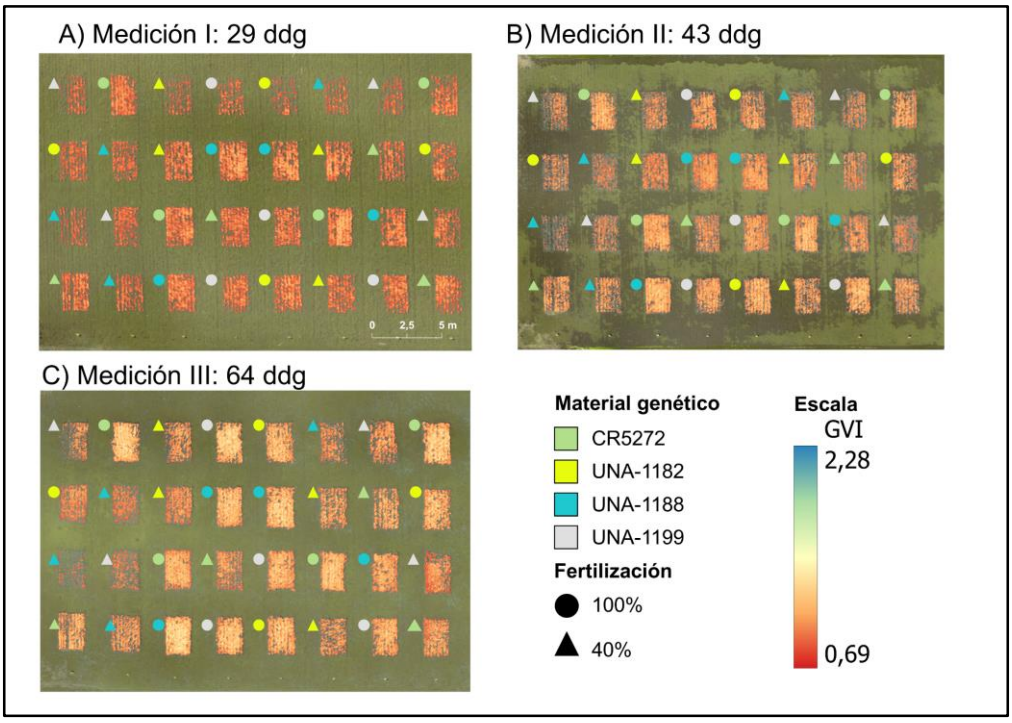
Anexo 6 Valores de RVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición.



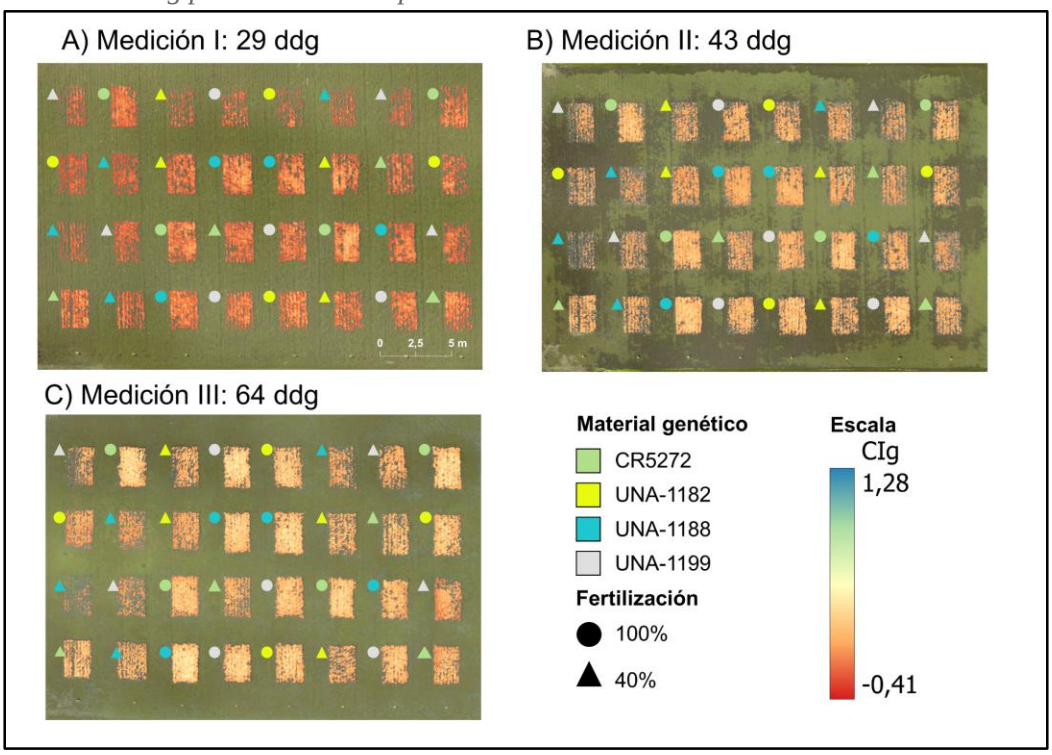
Anexo 7 Valores de GNDVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición.



Anexo 8 Valores de GVI para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición.



Anexo 9 Valores de CIg para las 32 microparcelas en los tres momentos de medición.



Anexo 10 Tabla de estadísticos de las correlaciones entre rendimiento, índices de clorofila y las variables morfológicas y componentes de rendimiento.

Variable	**Rendimiento**		**Clorofila I**		**Clorofila II**		**Clorofila III**	
	R^2	**p**	**R^2**	**p**	**R^2**	**p**	**R^2**	**p**
Altura	0.41	<0.05	0.33	>0.05	0.47	<0.05	0.59	<0.05
Macollamiento	-0.16	>0.05	0.21	>0.05	0.16	>0.05	0.20	>0.05
Materia seca	0.13	>0.05	0.18	>0.05	0.08	>0.05	0.27	>0.05
Longitud de panícula	0.26	>0.05	0.25	>0.05	0.45	<0.05	0.41	<0.05
Esterilidad	-0.33	>0.05	0.20	>0.05	-0.20	>0.05	-0.17	>0.05
Peso 100 granos	0.59	<0.05	0.01	>0.05	0.39	<0.05	0.24	>0.05