



**UNIVERSIDAD DE LEÓN**

ADAPTACIÓN A LA SIEMBRA INVERNAL  
Y TOLERANCIA AL FRÍO EN LENTEJA  
(*Lens culinaris* Medik). MAPEO DE QTLs  
INVOLUCRADOS

TESIS DOCTORAL

ABEL BARRIOS CASADO  
INGENIERO AGRÓNOMO

León 2012



## AGRADECIMIENTOS

¡Ya era hora! es lo que estoy pensando mientras escribo estas líneas. Después de no sé cuántos años y unas cuantas arrugas más en la cara, parece que se acerca el día en el que este trabajo ha finalizado, aunque en estos momentos no me lo creo. Como animales gregarios que somos los humanos, no he de olvidarme de la gente que ha estado a mi lado durante la elaboración de este trabajo, qué menos agradecerse y darles las gracias:

En primer lugar quiero agradecer al Instituto Tecnológico Agrario de la Junta de Castilla y León, por la concesión de la beca predoctoral, y a su personal por todo lo que me han ayudado.

Al Dr. Marcelino Pérez de la Vega, por su tutoría, dirección y consejos. Te has portado como un padre para mí.

Al Dr. Constantino Caminero, gracias por absolutamente todo, todo y todo, por la tutoría y dirección, por tus consejos, por la educación, por tus risas... y sobre todo gracias por la confianza depositada en mí ¡te debo mucho!

A Trinidad Aparicio, esa chica que cuando la conocí chupaba piruletas y vestía de colores vivos vivos (y sigue vistiendo igual). No he visto una persona que trabaje tan bien y tan eficientemente como tú, ya sea en invernadero, laboratorio o campo, ya hiele o haga 40°C. Ha sido un honor trabajar contigo. Gracias por muchísimas cosas, y en especial, por tu eterna sonrisa.

Al Dr. Manuel Rodríguez, el experto lentejero del ITACyL que me ha ayudado tanto. Nunca se me olvidará el día que me explicaste el concepto de interacción. Gracias por ser como eres, me lo he pasado bomba contigo, eres de lo más desestresante.

A los investigadores del ITACyL, Paco, Nieves, Aurora, Pierre, Tivi, Avelino, Álvaro, Charo, Laura, Rosa, Teresa, Mari Carmen (x2), Marta y David, Miguel Ángel, Javier,

José Antonio... y alguno más que se me olvida, me habéis asesorado muy bien. En especial, quiero agradecer al Dr. José Luis Montoya, tu forma de trabajar es impresionante, y es más, pagaría por trabajar otra vez contigo, aquello no fueron horas de trabajo, fueron horas de clases magistrales!

A la gente de León, Pedro, Cristina, Patricia, Raúl, Cecilia... cada vez que iba a veros volvía lleno de saberes.

Al grupo de leguminosas y demás familita, Alberto, Alicia, Alexis, Menchu, Ángel, Javier (x2), Laura (x3 ó x4), Miguel Ángel (x2), Eduardo, Loic, María, Carmelo, André, Yoli, Almudena, María Ángeles (la de los papeles), Verónica (y sus compas de informática)... sois muchos... Os doy las gracias y os pido perdón por todo lo que habéis tenido que aguantarme, que sé que no es poco. Anda que no echamos horas en el labo ¿verdad Ali y Alberto?

A las chicas del labo, Sonia, Lorena, Begoña, Marta, Noemí, Katherina ... por hacer más llevadero el trabajo gracias a vuestra ayuda. Quiero incluir a la mujer de los microsátélites, la Dra. Ana María Casas, me resolviste muchas dudas, desde Zaragoza.

A los Drs. Fred J. Muehlbauer y Kevin McPhee, por las lentes cedidas y por toda la ayuda que enviasteis desde el otro lado del Charco.

Al equipo de GenXPro, Peter Winter, Günter Kahl, Ralf, Alejandro, Anne, Björn, Ruth, Eduardo, Nico, Cornelia, Kido... por acogerme tan bien en Frankfurt.

A Nicolás Armenteros (IGP Lenteja de la Armuña) y al Dr. Javier Ponga (IGP Lenteja Pardina de Tierra de Campos), gracias por estar al otro lado del teléfono, o del e-mail, para darme todo cuanto os pedí, me ha sido de mucha ayuda.

A Álvaro Novella, experto lentejero que no cuidaba, sino que mimaba los ensayos de Peñaflor de Hornija, y además nos asesoraba como lo que es, el mejor.

A los tractoristas y operarios del ITACyL, Carmelo, Tomás, Eusebio, Luis, Felina, Santiago, Arturo, Encarna, Elena,...son mogollón... lo a gusto que os quedasteis el día que acabamos con los ensayos de lenteja y os entiendo ¡qué placer! aunque ahora los eche de menos. En especial, quiero agradecer a Olegario Esteban, persona honrada y ejemplar como nadie, que mimó los ensayos de Zamadueñas, y que más ha valorado mi trabajo desde el principio, y por ello te lo agradezco mucho. Esta tesis también es parte tuya.

Al Dr. Baudilio Herrero, mi profe de Botánica. Gracias por tus consejos y por “engancharme” al mundo de las plantas, cuando no era más que un chico no muy convencido de estudiar “Horto”.

Para ir finalizando, a mis padres y hermanos, que aunque no tengáis ni idea de lo que estoy haciendo, sois también responsables de este trabajo, porque os debo todo.

Y lo más importante de mi vida, mi Bego. Carros y carretas has tenido que aguantarme, mi pañuelo de lágrimas, sé que has sufrido tanto como yo con esta tesis y eso no tiene precio. No se hubiera podido realizar si no es gracias a ti.

## RESUMEN

El bajo nivel de autoabastecimiento de la lenteja que presenta España, importando el 78% de sus necesidades, unido a los indudables beneficios agronómicos de este cultivo dentro de un marco de agricultura sostenible y respetuosa con el medio ambiente, reduciendo, por ejemplo, las necesidades en la rotación de los cada vez más caros fertilizantes nitrogenados, hacen de este tradicional cultivo una alternativa interesante en las rotaciones de secano de la meseta Castellano-Leonesa.

No obstante, la desatención que ha sufrido durante décadas, en Castilla y León se manifiesta en bajos e inestables rendimientos, obteniendo unas producciones medias que no llegan a la cuarta parte de lo que produce la cebada, niveles productivos lejos del umbral de rendimiento que debería tener para ser interesante. Esta situación ha conducido al abandono del cultivo, quedando relegado a zonas protegidas bajo el amparo de figuras de calidad y con una fuerte dependencia de la concesión de subvenciones.

En consecuencia, resulta interesante indagar, y así lo ha planteado la presente tesis en sus objetivos, si la lenteja podría finalmente ser un cultivo lo suficientemente rentable como para ser incluido en las rotaciones de cultivo del secano castellano-leonés mediante dos estrategias combinadas: La primera, mediante el adelanto de la tradicional fecha de siembra primaveral a otra más temprana, invernal, y la segunda, mediante la realización de trabajos de selección de líneas adaptadas a siembras invernales, de las que carece el mercado actualmente. En función de ello, aquí también se plantea una contribución a la definición del ideotipo a tener en cuenta dentro de un plan de mejora genética de lenteja adaptada a la siembra invernal en las condiciones de los secanos de Castilla y León, considerando la identificación de las variables climáticas que más pueden influir en la adaptación a la fecha de siembra.

Se han evaluado dos poblaciones de lenteja RIL F<sub>6:7</sub>, Precoz x WA8649041y BGE016365 x ILL1918, en cuanto a rendimiento y estabilidad realizando siembras primaverales e invernales durante tres campañas de cultivo (2005/06, 2006/07 y 2007/08) en dos localidades con distintos potenciales productivos, empleando como testigos 11 variedades comerciales. Además con una de las poblaciones, se han evaluado caracteres relacionados con la supervivencia en campo a los rigores

invernales, con la fenología del cultivo, con la morfología general y con los componentes del rendimiento, evaluándose también la tolerancia a las heladas en cámara de ambiente controlado.

Paralelamente se ha construido un mapa genético para la población Precoz x WA8649041 que ha permitido la detección de QTLs vinculados a los caracteres evaluados.

La analítica estadística considerada ha utilizado métodos no paramétricos para el estudio de la estabilidad varietal, diversas descomposiciones del modelo de análisis de varianza, el análisis AMMI, modelos de regresión factorial que incluyen covariables genotípicas y ambientales, y técnicas híbridas entre las anteriores. Para la construcción del mapa genético los grupos de ligamiento fueron establecidos mediante el cálculo del valor LOD del test por independencia y el orden de los marcadores se estableció mediante el método de mapeo por regresión, y se calcularon las distancias mediante la función de Kosambi. En la detección de QTLs se ha aplicado el método “Interval Mapping”, “Multiple-QTL Model” y el test de Kruskal-Wallis. El LOD umbral se calculó de manera independiente para cada carácter con el test de permutaciones (1.000 permutaciones).

El estudio del rendimiento y su estabilidad en las variedades comerciales más representativas ha reflejado las grandes diferencias que hay entre las mismas, con variedades cuya utilización queda descartada por los bajos rendimientos así como un comportamiento muy inestable, mientras que otras sí han mostrado niveles aceptables de producción y estabilidad. Si bien todas comparten una característica común, están orientadas para la siembra primaveral, porque en siembras invernales, ninguna de ellas ha mostrado niveles aceptables de producción y estabilidad. En la zona en estudio, tradicionalmente la lenteja se ha sembrado, y se siembra, en primavera en condiciones de secano, si bien no parece la fecha de siembra más adecuada, para las condiciones climatológicas de la meseta Castellano-Leonesa, cara al aprovechamiento de los recursos hídricos y a la disminución del estrés generado por la sequía terminal.

En función de los resultados obtenidos, el adelanto de la fecha de siembra se ha mostrado como una estrategia eficaz para el aumento del rendimiento, con aumentos medios de rendimiento del 58,33% respecto de las mismas líneas sembradas en

primavera. Asimismo, la realización de siembras tempranas con las líneas seleccionadas por su rendimiento y estabilidad refleja unos aumentos medios del rendimiento del 98,73% en comparación con los mejores testigos sembrados en primavera, quedando así justificados los trabajos de selección de líneas orientadas a siembras invernales. La rentabilidad del cultivo de la lenteja considerando esta mejora resulta competitiva frente a la obtenida por la cebada, cultivo mayoritario en los secanos castellanos y leoneses.

Se ha detectado una importante influencia en el modelo de análisis de varianza del rendimiento de la interacción genotipo x ambiente, explicada principalmente por los comportamientos diferenciales motivados por el cambio en la fecha de siembra y, especialmente, por los detectados entre ambientes de siembra invernal. El ambiente y los genotipos han contribuido por igual a la variación detectada, y, dentro de la componente ambiental, ha sido la fecha de siembra la que más ha explicado la variabilidad detectada.

El análisis AMMI ha detectado dos posibles ejes de explicación de la interacción genotipo x ambiente, que han permitido un apoyo para la identificación de covariables ambientales y genotípicas involucradas en dicha interacción genotipo por ambiente. Así, las covariables ambientales que más han influido en la interacción genotipo por ambiente han sido el número de días de heladas por debajo de  $-6^{\circ}\text{C}$  durante el desarrollo vegetativo y las temperaturas mínimas de mínimas durante la maduración. Así, la adaptación a la fecha de siembra está influida principalmente por los fríos intensos durante el desarrollo vegetativo y por las temperaturas más frescas durante el llenado y maduración de la semilla.

El ideotipo asociado positivamente al rendimiento general ha resultado aquel caracterizado por la alta producción de biomasa pero con baja producción comparativa de paja (lo que se traduce en índice de cosecha alto y alta productividad por planta). En cuanto a la fenología, el ideotipo ha de ser precoz en cuanto a floración y con duración larga en los periodos de llenado de grano y maduración. De esta forma se facilita un largo periodo reproductivo, pero con un buen escape a los estreses producidos por la sequía y los calores típicos del final del ciclo de cultivo. Referente a morfología, las plantas deben ser altas, pero con poca longitud a la primera vaina, lo que se traduce en un mayor número de pisos florales, y en último término, que produzcan un mayor número de vainas. Asimismo, también parece interesante el contemplar genotipos con



tamaño de foliolo pequeño y, con un menor nivel de significación, con expresión de menos flores por pedúnculo y parámetros de tolerancia a las heladas altos.

En lo referente a la adaptación al adelanto de la fecha de siembra, la tolerancia a las heladas ha sido la covariable genotípica que mayor peso específico ha mostrado en la explicación de la interacción genotipo x ambiente, principalmente en lo referente a la adaptación de los genotipos dicho cambio en la fecha de siembra. Así, el ideotipo buscado para realización de fecha de siembra invernal, en especial en aquellas zonas caracterizadas por el rigor alto de las heladas, debe presentar parámetros altos de tolerancia a las heladas, que parecen no ser tan necesarios, e incluso podrían tener cierta influencia negativa, en siembras primaverales. Asimismo, se verán más beneficiados, en cuanto al diferencial de expresión de rendimiento motivado por la siembra invernal aquellos genotipos con mayor longitud de planta, capaces de generar valores altos de biomasa y con periodo largo en la duración de la floración.

Dentro de las interacciones particulares entre variables climáticas con covariables genotípicas, la que mayor influencia ha presentado en la explicación de los comportamientos diferenciales del rendimiento ha sido la habida entre la tolerancia genotípica a las heladas y el número de días de helada por debajo de  $-3^{\circ}\text{C}$  durante el desarrollo vegetativo., cuantificándose en 21,6 kg/ha por cada día de helada la diferencia en rendimiento para el incremento en un nivel de tolerancia genotípica dentro de los definidos en el material de estudio.

A partir de la población Precoz x WA8649041 se ha construido un mapa genético formado por 13 grupos de ligamiento, con un tamaño de 577,5 cM y contiene 232 loci, de los cuales 153 son AFLPs, 44 son MFLPs, 11 son ISSRs, 23 son SSRs y uno morfológico, el color del cotiledón (*Yc*).

Se han detectado un total de 60 QTLs, ocho de rendimiento *per se*, ocho de supervivencias en campo, 22 de tolerancia a heladas en cámara de ambiente controlado, siete de covariables fenológicas, nueve de covariables morfológicas y seis de covariables relacionadas con el rendimiento. La distribución en los grupo de ligamiento ha sido: en el 1, 10 QTLs, en el grupo de ligamiento 3, 12 QTLs, en el grupo de ligamiento 4, dos QTLs, en el grupo de ligamiento 6, cuatro QTLs, en el grupo de

ligamiento 11, un solo QTL, y en el grupo de ligamiento 12, 22 QTLs. En este último caso casi todos ellos localizados en un intervalo de 3 cM, constituyendo la región del mapa que más actividad ha mostrado.

**ÍNDICE**

<b>1.- INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.- NOCIONES BÁSICAS SOBRE LA LENTEJA .....</b>	<b>3</b>
1.1.1.- DESCRIPCIÓN GENERAL.....	3
1.1.2.- SUS USOS .....	5
1.1.3.- SOBRE SU SISTEMÁTICA .....	8
1.1.4.- REMONTÁNDONOS EN EL TIEMPO .....	11
1.1.5.- PINCELADAS SOBRE AGRONOMÍA.....	13
<b>1.2.- SU SITUACIÓN ACTUAL.....</b>	<b>16</b>
1.2.1.- EN EL MUNDO .....	16
1.2.2.- EN LA UNIÓN EUROPEA (UE 27) .....	18
1.2.3.- EN ESPAÑA.....	20
1.2.4.- EN CASTILLA Y LEÓN .....	24
1.2.5.- ALGUNAS REFLEXIONES: AÚN ASÍ... ¿PUEDE SER INTERESANTE SU CULTIVO? .....	26
<b>1.3.- LA SIEMBRA TEMPRANA EN LENTEJA .....</b>	<b>29</b>
1.3.1.- INTRODUCCIÓN E INTERÉS .....	29
1.3.2.- INTERACCIÓN GENOTIPO X AMBIENTE.....	34
1.3.3.- LA DUREZA INVERNAL Y EL FRÍO.....	36
1.3.3.1.- ¿Qué es la dureza invernal? .....	36
1.3.3.2.- Efectos generales del frío en las plantas .....	37
1.3.3.3.- La tolerancia al frío.....	39

## Índice

1.3.3.4.- La genética de la tolerancia al frío .....	41
1.3.3.5.- Metodología para la evaluación de la tolerancia a la dureza invernal y tolerancia a las heladas.....	43
<b>1.4.- BIOTECNOLOGÍA Y SUS APLICACIONES EN LENTEJA .....</b>	<b>45</b>
<b>2.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>51</b>
<b>3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>57</b>
<b>3.1.- MATERIAL VEGETAL .....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.- ENSAYOS DE CAMPO .....</b>	<b>60</b>
3.2.1.- DEFINICIÓN DE LOS AMBIENTES .....	60
3.2.1.1.- Localidades.....	60
3.2.1.2.- Campañas de cultivo.....	61
3.2.1.3.- Fechas de siembra.....	65
3.2.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL.....	66
3.2.3.- PRÁCTICAS CULTURALES .....	66
3.2.4.- CARACTERIZACIÓN .....	67
3.2.4.1.- Caracteres relacionados con el crecimiento inicial y la tolerancia a la dureza invernal.....	67
3.2.4.2.- Caracteres relacionados con la morfología.....	68

3.2.4.3.- Caracteres relacionados con la fenología.....	69
3.2.4.4.- Caracteres relacionados con el rendimiento.....	70
3.2.4.5.- Covariables ambientales.....	71
<b>3.3.- ENSAYOS DE TOLERANCIA A HELADA EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO .....</b>	<b>72</b>
3.3.1.- METODOLOGÍA DEL PROCESO .....	72
3.3.2.- CARACTERES EVALUADOS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO.....	74
<b>3.4.- METODOLOGÍA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>76</b>
3.4.1.- NOTAS SOBRE LOS ASPECTOS INFORMÁTICOS.....	76
3.4.2.- PRIMERA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: SIMULACIÓN DE SELECCIÓN POR SUPERIORIDAD Y ESTABILIDAD EN RENDIMIENTO.....	76
3.4.3.- ANÁLISIS DE VARIANZA GENERAL .....	79
3.4.4.- SEGUNDA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: INFLUENCIA DEL ADELANTO DE LA FECHA DE SIEMBRA SOBRE EL RENDIMIENTO .....	81
3.4.5.- ANÁLISIS DE VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA .....	81
3.4.6.- ANÁLISIS AMMI.....	82

3.4.7.- DETECCIÓN DE COVARIABLES AMBIENTALES INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE.....	85
3.4.7.1.- Primera aproximación: estudio de la correlación de las covariables ambientales con los ejes del modelo AMMI.....	85
3.4.7.2.- Segunda aproximación: modelización por regresión factorial frente a los ejes del modelo AMMI.....	86
3.4.8.- DETECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE.....	87
3.4.8.1.- Estudio de la heredabilidad y elección de covariables genotípicas preliminares .....	88
3.4.8.2.- Análisis de la varianza considerando la descomposición del ambiente en función de la fecha de siembra una vez incluidas las covariables genotípicas.....	89
3.4.8.3.- Primera aproximación: estudio de la correlación de las covariables genotípicas con el rendimiento y con los ejes del modelo AMMI.....	89
3.4.8.4.- Segunda aproximación: modelización por regresión factorial frente a los ejes del modelo AMMI.....	89
3.4.9.- DEFINICIÓN DE UN MODELO INCLUYENDO INFORMACIÓN GENOTÍPICA Y AMBIENTAL.....	90
3.4.9.1.- Regresión factorial considerando covariables ambientales y genotípicas.....	90

3.4.9.2.- Sensibilidad de las covariables genotípicas frente a cambios en los condicionantes ambientales..... 91

**3.5.- MAPEO GENÉTICO DE COVARIABLES GENOTÍPICAS RELACIONADAS CON EL RENDIMIENTO Y LA ADAPTACIÓN EN CAMPO, Y CON LA TOLERANCIA A HELADAS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO..... 92**

3.5.1.- CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS PARENTALES ..... 92

3.5.1.1.- Extracción de ADN ..... 92

3.5.1.2.- Análisis de microsatélites (SSR)..... 92

3.5.1.3.- Análisis de intermicrosatélites (ISSR) ..... 94

3.5.1.4.- Análisis de marcadores RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA)..... 94

3.5.1.5.- Análisis de marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ..... 94

3.5.1.6.- Análisis de marcadores MFLP (Microsatellite-anchored Fragment Length Polymorphism) ..... 96

3.5.1.7.- Nomenclatura de las bandas..... 97

3.5.1.8.- Marcadores morfológicos ..... 97

3.5.2.- CONSTRUCCIÓN DE UN MAPA GENÉTICO Y ANÁLISIS DE LIGAMIENTO ..... 97

## Índice

3.5.3.- DETECCIÓN DE QTLs LIGADOS A LOS CARACTERES MEDIDOS .....	98
<b>4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>99</b>
<b>4.1.- ESTUDIO DEL RENDIMIENTO .....</b>	<b>101</b>
4.1.1.- PRIMERA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: SIMULACIÓN DE SELECCIÓN POR SUPERIORIDAD Y ESTABILIDAD EN RENDIMIENTO .....	101
4.1.2.- ANÁLISIS DE VARIANZA GENERAL.....	117
4.1.3.- SEGUNDA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: INFLUENCIA DEL ADELANTO DE LA FECHA DE SIEMBRA SOBRE EL RENDIMIENTO .....	119
4.1.4.- ANÁLISIS DE VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA.....	121
4.1.5.- ANÁLISIS AMMI .....	122
4.1.6.- DETECCIÓN DE COVARIABLES AMBIENTALES INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE.....	128
4.1.6.1.- Primera aproximación: estudio de la correlación de las covariables ambientales con los ejes del modelo AMMI.....	128
4.1.6.2.- Segunda aproximación: modelización por regresión factorial frente a los ejes del modelo AMMI.....	130



4.1.7.- DETECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE .....	135
4.1.7.1.- Estudio de la heredabilidad y elección de covariables genotípicas preliminares .....	135
4.1.7.2.- Análisis de la varianza considerando la descomposición del ambiente en función de la fecha de siembra una vez incluidas las covariables genotípicas .....	140
4.1.7.3.- Primera aproximación: estudio de la correlación de las covariables genotípicas con el rendimiento y con los ejes del modelo AMMI .....	143
4.1.7.4.- Segunda aproximación: modelización por regresión factorial frente a los ejes del modelo AMMI .....	150
4.1.7.4.1.- <i>Rendimiento medio general</i> .....	150
4.1.7.4.2.- <i>Primer eje de interacción del modelo AMMI</i> ( <i>IPCA1</i> ).....	152
4.1.7.4.3.- <i>Segundo eje de interacción del modelo AMMI</i> ( <i>IPCA2</i> ).....	154
4.1.7.4.4.- <i>Modelo de selección de líneas a partir del modelo</i> <i>AMMI</i> .....	156
4.1.8.- DEFINICIÓN DE UN MODELO INCLUYENDO INFORMACIÓN GENOTÍPICA Y AMBIENTAL .....	160
4.1.8.1.- Regresión factorial considerando covariables ambientales y genotípicas .....	160
4.1.8.2.- Sensibilidad de las covariables genotípicas frente a cambios en los condicionantes ambientales.....	167

## *Índice*

<b>4.2.- SEGREGACIÓN DE MARCADORES, ANÁLISIS DE LIGAMIENTO Y CONSTRUCCIÓN DEL MAPA GENÉTICO .....</b>	<b>180</b>
<b>4.3.- DETECCIÓN DE QTLs .....</b>	<b>191</b>
4.3.1.- QTLs RELACIONADOS CON EL RENDIMIENTO.....	191
4.3.2.- QTLs RELACIONADOS CON LAS SUPERVIVENCIAS EN CAMPO.....	195
4.3.3.- QTLs RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA A HELADAS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO.....	202
4.3.4.- QTLs RELACIONADOS CON LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS .....	210
4.3.4.1.- QTLs relacionados con las covariables genotípicas fenológicas .....	210
4.3.4.2.- QTLs relacionados con las covariables genotípicas morfológicas.....	216
4.3.4.3.- QTLs relacionados con las covariables genotípicas relacionadas con el rendimiento.....	226
<b>5.- CONCLUSIONES.....</b>	<b>235</b>
<b>6.- BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>239</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.-</b> Morfología de la planta de lenteja (Thomé 1885).....	4
<b>Figura 2.-</b> Distribución de los taxones silvestres de <i>Lens</i> Miller (Cubero 1981). .....	10
<b>Figura 3.-</b> Evolución de la superficie, rendimiento y producción en el mundo.....	16
<b>Figura 4.-</b> Distribución por continentes de la superficie, rendimiento y producción de lenteja en 2006 - 2010. ....	17
<b>Figura 5.-</b> Evolución de la superficie, producción y rendimiento de lenteja en la UE27.....	19
<b>Figura 6.-</b> Evolución de la superficie, producción y rendimiento de lenteja en España .....	21
<b>Figura 7.-</b> Evolución del rendimiento de diferentes cultivos en España.....	23
<b>Figura 8.-</b> Evolución de la superficie, producción y rendimiento en Castilla y León. ....	24
<b>Figura 9.-</b> Programa de tratamientos de helada .....	73
<b>Figura 10.-</b> Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando todos los ambientes.....	106
<b>Figura 11.-</b> Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando el conjunto de los ambientes de fecha de siembra invernal. ....	108
<b>Figura 12.-</b> Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando el conjunto de los ambientes de fecha de siembra primaveral.....	111

## Índice

<b>Figura 13.-</b>	Rendimiento medio en lenteja (tm/ha) para los distintos ambientes ensayados .....	120
<b>Figura 14.-</b>	Componentes del primer eje factorial (IPCA1) frente al segundo (IPCA2) definidos por el AMMI2 .....	125
<b>Figura 15.-</b>	Efecto aditivo de la tolerancia a las heladas sobre el rendimiento en función del número de días de heladas por debajo de -3°C durante el desarrollo vegetativo.....	168
<b>Figura 16.-</b>	Efecto aditivo de la longitud a primera vaina sobre el rendimiento en función la precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo .....	170
<b>Figura 17.-</b>	Efecto aditivo de la producción se semillas por planta sobre el rendimiento en función del número de días de helada menor de -3°C durante el desarrollo vegetativo.....	172
<b>Figura 18.-</b>	Efecto aditivo del inicio de floración sobre el rendimiento en función del número de días de helada menor de -3°C durante la floración.....	174
<b>Figura 19.-</b>	Efecto aditivo del índice de cosecha por planta sobre el rendimiento en función de la precipitación efectiva durante la floración.....	176
<b>Figura 20.-</b>	Efecto aditivo del índice de la longitud a primera vaina sobre el rendimiento en función de la precipitación efectiva durante la maduración. ....	177
<b>Figura 21.-</b>	Efecto aditivo de la producción de semilla por planta sobre el rendimiento en función de la radiación neta durante la maduración. ....	179
<b>Figura 22.-</b>	Mapa genético de lenteja ( <i>Lens culinaris</i> subsp. <i>culinaris</i> ) generado a partir de la población RIL en F6 del cruzamiento Precoz x WA8649041.....	185

<b>Figura 23.-</b>	QTLs relacionados con el rendimiento en el LG6 .....	192
<b>Figura 24.-</b>	QTLs relacionados con el rendimiento en el LG8 .....	193
<b>Figura 25.-</b>	QTLs relacionados con el rendimiento en el LG12 .....	193
<b>Figura 26.-</b>	QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG3.....	196
<b>Figura 27.-</b>	QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG6.....	197
<b>Figura 28.-</b>	QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG8.....	197
<b>Figura 29.-</b>	QTLs relacionados con la supervivencia en campo en el LG12.....	198
<b>Figura 30.-</b>	QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG1.....	206
<b>Figura 31.-</b>	QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG3.....	206
<b>Figura 32.-</b>	QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG4.....	207
<b>Figura 33.-</b>	QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG12.....	207
<b>Figura 34.-</b>	QTLs relacionados con la fenología en el LG3. ....	211
<b>Figura 35.-</b>	QTLs relacionados con la fenología en el LG12. ....	212
<b>Figura 36.-</b>	Distribución de frecuencias para el carácter inicio de floración. ....	214
<b>Figura 37.-</b>	Localización del carácter inicio de floración en el LG12. ....	214
<b>Figura 38.-</b>	Distribución de frecuencias de la duración de la floración, duración de la maduración a primera vaina, duración de la maduración total y días a maduración a primera vaina.....	216
<b>Figura 39.-</b>	QTLs relacionados con la morfología detectados en el LG3.....	218

## *Índice*

<b>Figura 40.-</b>	QTL relacionado con la morfología detectado en el LG6.....	219
<b>Figura 41.-</b>	QTL relacionado con la morfología detectado en el LG11 .....	219
<b>Figura 42.-</b>	QTLs relacionados con la morfología detectados en el LG12 .....	220
<b>Figura 43.-</b>	Distribución de frecuencias del carácter longitud a primera vaina (LON1VAI) .....	221
<b>Figura 44.-</b>	Distribución de frecuencias del carácter tamaño del foliolo (TAMFOL) .....	222
<b>Figura 45.-</b>	QTL relacionado con el peso de mil semillas detectado en el LG6.....	227
<b>Figura 46.-</b>	QTLs relacionados con las covariables que relacionadas con el rendimiento detectado en el LG12. ....	227

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.-</b> Composición de la semilla lenteja seca (por cada 100 g de materia seca) .....	6
<b>Tabla 2.-</b> Principales países en el comercio mundial de lentejas (miles de tm) 18	
<b>Tabla 3.-</b> Promedio de la superficie, producción y rendimiento de lenteja entre 2006 y 2010 en los países de la UE27 .....	20
<b>Tabla 4.-</b> Superficie y producción de lenteja en Castilla y León, por provincias. Promedio 2007 – 2011 .....	25
<b>Tabla 5.-</b> Comparación de los beneficios obtenidos en cebada y lenteja .....	27
<b>Tabla 6.-</b> Mapas de ligamiento de <i>Lens</i> Miller publicados. ....	46
<b>Tabla 7.-</b> Correspondencia entre microsatélites empleados por diferentes autores en mapas genéticos de <i>Lens</i> Miller.....	47
<b>Tabla 8.-</b> Caracteres morfológicos mapeados en diferentes grupos de ligamiento en el genoma de <i>Lens</i> Miller.....	48
<b>Tabla 9.-</b> Principales caracteres morfológicos en lenteja .....	49
<b>Tabla 10.-</b> Datos climáticos de las campañas 2005/06, 2006/07, 2007/08 y del año tipo en la finca de Zamadueñas, en Valladolid.....	62
<b>Tabla 11.-</b> Datos climáticos de la campaña 2007-2008 y del año tipo en Peñaflor de Hornija (Valladolid).....	64
<b>Tabla 12.-</b> Relación de los ambientes ensayados, descripción y fecha en que se realizaron las siembras.....	65
<b>Tabla 13.-</b> Covariables climáticas calculadas para el ciclo completo, para el desarrollo vegetativo, para la floración y para la maduración .....	72

## Índice

<b>Tabla 14.-</b> Microsatélites empleados para la caracterización de los parentales.....	93
<b>Tabla 15.-</b> Combinaciones empleadas para los AFLP y condiciones de la PCR para la amplificación selectiva.....	95
<b>Tabla 16.-</b> Combinaciones empleadas para los MFLP y condiciones de la PCR para la amplificación selectiva.....	96
<b>Tabla 17.-</b> Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de todos los ambientes.....	106
<b>Tabla 18.-</b> Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de ambientes de fecha de siembra invernal.....	109
<b>Tabla 19.-</b> Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de los ambientes de fecha de siembra primaveral.....	112
<b>Tabla 20.-</b> Rendimientos medios e incrementos de rendimientos obtenidos (tm/ha) .....	113
<b>Tabla 21.-</b> Comparación de los beneficios obtenidos en cebada y lenteja para distintos niveles de producción.....	116
<b>Tabla 22.-</b> Análisis de varianza general para el carácter rendimiento (REN en tm/ha).....	118
<b>Tabla 23.-</b> Prueba de Tukey para la comparación múltiple de las medias de rendimiento (tm/ha). .....	119
<b>Tabla 24.-</b> Análisis de la varianza del carácter rendimiento (tm/ha) para la descomposición de la variación ambiental y de la interacción GxE en función de la fechas de siembra. ....	122
<b>Tabla 25.-</b> Análisis multiplicativo AMMI para el carácter rendimiento (tm/ha) considerando el conjunto de los ambientes. ....	123



<b>Tabla 26.-</b> Descomposición de los componentes de la interacción GxE en función de los ejes de interacción del modelo AMMI2. ....	127
<b>Tabla 27.-</b> Coefficientes de correlación de Pearson entre las covariables ambientales y los ejes IPCA del análisis AMMI. ....	129
<b>Tabla 28.-</b> Covariables ambientales seleccionadas mediante regresión paso a paso empleando como variable dependiente el eje IPCA1. ....	131
<b>Tabla 29.-</b> Covariables ambientales seleccionadas mediante regresión paso a paso empleando como variable dependiente el eje IPCA2. ....	133
<b>Tabla 30.-</b> Influencia de las covariables ambientales explicativas sobre la interacción GxE y sus componentes .....	134
<b>Tabla 31.-</b> Valores de heredabilidad en sentido amplio (H) para las covariables genotípicas .....	137
<b>Tabla 32.-</b> Heredabilidades en sentido amplio obtenidas para cada ambiente particular .....	139
<b>Tabla 33.-</b> Influencia de las covariables genotípicas explicativas sobre la interacción GxE y sus componentes .....	141
<b>Tabla 34.-</b> Coefficientes de correlación de Pearson entre las covariables genotípicas y, el rendimiento general y ejes del modelo AMMI 2. ....	144
<b>Tabla 35.-</b> Comparación entre correlaciones negativas entre diferentes caracteres con el rendimiento obtenidas por diferentes autores.....	147
<b>Tabla 36.-</b> Comparación entre correlaciones positivas entre diferentes caracteres con el rendimiento obtenidas por diferentes autores.....	148
<b>Tabla 37.-</b> Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión factorial para el rendimiento y obtención de parámetros de rectas de regresión. ....	151

## Índice

<b>Tabla 38.-</b> Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión factorial para el eje IPCA1 y obtención de parámetros de rectas de regresión .....	153
<b>Tabla 39.-</b> Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión paso a paso para el eje IPCA2 y obtención de parámetros de rectas de regresión.....	155
<b>Tabla 40.-</b> Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para el conjunto de todos los ambientes y su comparación con el método de Ketata y col. (1989) .....	157
<b>Tabla 41.-</b> Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para los ambientes de invierno y su comparación con el método de Ketata y col. (1989).....	158
<b>Tabla 42.-</b> Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para los ambientes de primavera y su comparación con el método de Ketata y col. (1989) .....	158
<b>Tabla 43.-</b> Rendimientos medios e incrementos de rendimientos estimados a partir del modelo AMMI .....	159
<b>Tabla 44.-</b> Influencia de las interacciones explicativas entre covariables ambientales y genotípicas sobre la interacción GxE y sus componentes .....	161
<b>Tabla 45.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel3_Dv*TOLHEL.....	167
<b>Tabla 46.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf_Dv*LON1VAI_PLA .....	169
<b>Tabla 47.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel6_Dv*PSEM_5 .....	171

<b>Tabla 48.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel3_Fl*INIFLO .....	173
<b>Tabla 49.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf_Fl*INDCOS5PL.....	175
<b>Tabla 50.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf_Md*LON1VAI_PLA .....	177
<b>Tabla 51.-</b> Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción RadN_Md*PSEM_5 .....	178
<b>Tabla 52.-</b> Rendimiento polimórfico de los marcadores incluidos en el análisis de ligamiento.....	180
<b>Tabla 53.-</b> Número y tipo marcadores incluidos en el mapa genético .....	183
<b>Tabla 54.-</b> Características de los grupos de ligamiento que forman el mapa genético. ....	185
<b>Tabla 55.-</b> Características generales de diferentes mapas genéticos de lenteja publicados. ....	188
<b>Tabla 56.-</b> Localización de microsatélites mapeados en diferentes mapas de lenteja.....	190
<b>Tabla 57.-</b> QTLs relacionados con el rendimiento en grano. ....	191
<b>Tabla 58.-</b> Localización de los QTLs relacionados con la supervivencia en campo .....	195
<b>Tabla 59.-</b> QTLs detectados relacionados con la tolerancia a las heladas en ambiente controlado.....	203
<b>Tabla 60.-</b> QTLs relacionados con las covariables genotípicas fenológicas .....	211
<b>Tabla 61.-</b> QTLs relacionados con las covariables genotípicas morfológicas .....	217

## *Índice*

<b>Tabla 62.-</b> Coeficientes de correlación de Pearson entre distintas covariables genotípicas .....	225
<b>Tabla 63.-</b> QTLs relacionados con las covariables genotípicas relacionadas con el rendimiento. ....	226
<b>Tabla 64.-</b> Coeficientes de correlación de Pearson entre distintas covariables genotípicas .....	229

## **ABREVIATURAS**

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados).
ALT_PAR	Altura de la parcela.
ALT1VAI_PAR	Altura a primera vaina de la parcela.
AMMI	Additive Main effects and Multiplicative Interaction (modelo de efectos principales aditivos e interacción multiplicativo).
BIOM5PL	Biomasa producida por planta.
BAC	Bacterial Artificial Chromosome (cromosoma bacteriano artificial).
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (secuencia polimórfica amplificada y cortada).
DiaHel	Número de días de helada.
DiaHel3	Número de días de helada menor de -3°C.
DiaHel6	Número de días de helada menor de -6°C.
DUF	Duración de la floración.
DUMAD1VAI	Duración de la maduración de la primera vaina.
DUMADULTVAI	Duración de la maduración de la última vaina.
DUMADUR	Duración de la maduración.
DUMAT	Duración de la maduración total.
Dv	Periodo de desarrollo vegetativo.
ENC_PLA	Encamado de la planta.
ENC1VAI	Encamado de la primera vaina de la planta.
EST	Expressed Sequence Tag (secuencia diana expresada).
FINFLO	Fin de floración.
Fl	Periodo de floración.
FLOR_PEDU	Número medio de flores por pedúnculo o racimo.
GLM	General Linear Model.
GxE	Genotype by Environment (genotipo por ambiente).
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources (Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos).
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (Centro Internacional de Investigación Agrícola en las Zonas Áridas).
IGP	Indicación Geográfica Protegida.
INDCOS5PL	Índice de cosecha por planta.

INIFLO	Inicio de floración.
IPCA	Interaction Principal Component Analysis (análisis de componentes principales de interacción).
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats (intermicrosat ).
ITACyL	Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
LG	Linkage Group (grupo de ligamiento).
LON_PLA	Longitud de la planta.
LON1VAI_PLA	Longitud a primera vaina de la planta.
MAD1VAI	Maduración de la primera vaina.
MAT	Maduración total.
Md	Periodo de maduración.
MFLP	Microsatellite-anchored Fragment Length Polymorphism (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción con microsátélites anclados).
P.A.C	Política Agraria Comunitaria.
PCR	Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa).
PI07	localidad Peñafior de Hornija, siembra invernal, campaña 2006/07.
PI08	localidad Peñafior de Hornija, siembra invernal, campaña 2007/08.
PNAS	Porcentaje de nascencia.
PNCL	Programa Nacional para la Calidad de las Legumbres.
PP07	localidad Peñafior de Hornija, siembra primaveral, campaña 2006/07.
PP08	localidad Peñafior de Hornija, siembra primaveral, campaña 2007/08.
PPAJA_5	Peso de la paja por planta.
Prec	Precipitación (mm).
PrecEf	Precipitación efectiva, P. MON. (mm).
PSEM_5	Producción se semilla por planta.
PSUP2_NAS	Porcentaje de supervivencia al final del periodo de desarrollo vegetativo respecto de las plantas nacidas.
PSUP2_SEM	Porcentaje de supervivencia al final del periodo de desarrollo vegetativo respecto de las semillas sembradas.
QTL	Quantitative Trait Loci (loci de los caracteres cuantitativos).
RadN	Radiación neta (MJ/m <sup>2</sup> ).
RAMAS	Número de ramas principales.

## *Índice*

RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA (ADN polimórfico amplificado al azar).
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisms (polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción).
RGA	Resistance Gene Analogs (genes de Resistencia análogos).
RIL	Recombinant Inbred Lines (líneas recombinantes consanguíneas).
ROS	Reactive Oxygen Species (especies reactivas de oxígeno).
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (polimorfismo de nucleótido simple).
SRAP	Sequence-Related Amplified Polymorphism (polimorfismo amplificado de secuencia relacionada).
SSR	Simple Sequence Repeats (repeticiones de secuencias simples).
T <sub>m</sub> max	Temperatura máxima de máximas (°C).
T <sub>m</sub> med	Temperatura media (°C).
T <sub>m</sub> max	Temperatura media de máximas (°C).
T <sub>m</sub> min	Temperatura media de mínimas (°C).
T <sub>m</sub> min	Temperatura mínima de mínimas (°C).
ZI06	Localidad Zamadueñas, siembra invernal, campaña 2005/06.
ZI07	Localidad Zamadueñas, siembra invernal, campaña 2006/07.
ZI08	Localidad Zamadueñas, siembra invernal, campaña 2007/08.
ZP06	Localidad Zamadueñas, siembra primaveral, campaña 2005/06.
ZP07	Localidad Zamadueñas, siembra primaveral, campaña 2006/07.
ZP08	Localidad Zamadueñas, siembra primaveral, campaña 2007/08.





# **INTRODUCCIÓN**



## **1.- INTRODUCCIÓN**

### **1.1.- NOCIONES BÁSICAS SOBRE LA LENTEJA**

#### **1.1.1.- DESCRIPCIÓN GENERAL**

Según Alonso y Cristóbal (1996), la lenteja (*Lens culinaris* Medik.) es una planta herbácea anual, con aspecto semejante a un pequeño arbusto al presentar ramificaciones basales tan vigorosas como el tallo del que parten.

En la Figura 1 se muestra una ilustración clásica de la obra de Thomé (1885) en la que se pueden apreciar algunas de las características de la planta de lenteja que a continuación se describen. Dicha descripción ha sido obtenida principalmente a partir de Duke (1981), Castroviejo (1999), Sandhu y Singh (2007), y Muehlbauer y Tullu (1997).

Su hábito de crecimiento varía desde erecto hasta postrado, en función del genotipo y el ambiente, y su altura varía generalmente entre 15 y 50 cm, sobrepasando raramente los 75 cm. Es una planta pubescente, en general, con tallos y ramas cuadrangulares con nervios en los ángulos. Las hojas son alternas y paripinnadas, con 10 a 16 folíolos sésiles de 1 a 3 cm de longitud, cuya forma varía de ovada a lanceolada. Las hojas pueden rematar en zarcillo y presentan dos estípulas vestigiales (Figura 1). Además poseen pulvínulos en la base que les permite plegarse en momentos de estrés hídrico (Castroviejo 1999).

Sus flores son típicamente papilionáceas, de 4 a 8 mm de longitud y de coloración azul pálido, púrpura, blanco o rosa (Duke 1981). Su fórmula floral es: K (5), C 5, A (1+9), G 1. Se reparten por la planta en racimos formados por 1 a 4 flores, que parten de las axilas foliares (Muehlbauer y Tullu 1997).

Su sistema radicular está formado por una delgada raíz principal de la que parten finas raíces secundarias. Generalmente en ellas puede apreciarse la presencia de nódulos, especialmente en la parte más próxima a la superficie del suelo, consecuencia

## Introducción

de la simbiosis que establece con la bacteria *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (Aparicio-Tejo 1993). Esta asociación, al igual que en otras leguminosas, aporta un beneficio a la planta por la fijación del nitrógeno atmosférico.

FIGURA 1: Morfología de la planta de lenteja (Thomé 1885).



La lenteja está considerada como planta de día largo cuantitativa, con un modelo de respuesta para la floración que es controlado por el fotoperiodo y la temperatura (Ford y col. 2007). En general, requiere de vernalización, siendo su floración escalonada (Nadal y col. 2004). En cuanto al modo de reproducción, se la considera como una planta fundamentalmente autógama, si bien existen estudios que reportan porcentajes de alogamia entre 0,8% y 6,6% (Wilson y Law 1972, Erskine y Muehlbauer 1991).

El fruto es de tipo legumbre (conocido comúnmente como vaina) generalmente glabro y de forma romboidal, aplastado lateralmente, con una longitud de 6 a 20 mm. En su interior se alojan una, dos o raramente tres semillas con forma de lente más o menos aplastada. La testa de la semilla puede ser uniformemente coloreada, punteada o jaspeada por diferentes colores (IBPGR – ICARDA, 1985), siendo los más frecuentes canela, verde, marrón, gris o negro. El color del cotiledón puede ser naranja o amarillo.

Tradicionalmente se han considerado dos tipos de lenteja, en función de la clasificación establecida por Barulina (1930), basada principalmente en el diámetro de la semilla: Macrosperma y Microsperma.

El tipo Macrosperma se caracteriza por tener semillas con un diámetro comprendido entre seis y ocho mm, cotiledones amarillos, grandes flores con los dientes del cáliz largos y casi siempre blancas, grandes folíolos ovales, y altura de 25 a 75 cm (Muelhbauer y Tullu 1997).

El tipo Microsperma se distingue por presentar semillas con un diámetro máximo de seis mm, flores pequeñas blancas o violetas, folíolos pequeños y lanceolados, y una altura que no sobrepasa los 35 cm (Muehlbauer y Tullu 1997).

Hasta tiempos recientes, en España la mayoría de los tipos de lentejas cultivadas eran Macrosperma, siendo poblaciones autóctonas mantenidas por los agricultores, que presentan cierta variabilidad intrapoblacional (Alonso y Cristóbal 1996).

### **1.1.2.- SUS USOS**

El principal uso que se hace de la lenteja es en la alimentación humana. Al respecto, el tipo de lenteja y las formas de preparación, ya sean cocidas, fritas, en ensalada, precocinadas o incluso en forma de brotes, varían según regiones y culturas.

Así, por ejemplo, mientras en la India prefieren las lentejas rojas peladas y partidas, en España se consumen enteras y se prefieren los tipos “Pardina”, “Verdina” y “Castellana” (Pérez de la Vega y col. 2011). Estas costumbres dictan no sólo el tipo de

## Introducción

lenteja que suele sembrarse en cada zona, sino también el tipo que producen los países claramente exportadores en función de los gustos de los países tradicionalmente consumidores.

Su composición nutritiva, al igual que la de otras leguminosas, hace de ellas un alimento adecuado para incluirlo en el concepto de dieta saludable, como la conocida Mediterránea, ya que no sólo son fuente de proteína sino también de hidratos de carbono complejos y fibra (Tabla 1). Tradicionalmente han sido valoradas como fuente de energía, proteínas y hierro: poseen un contenido de entre 43-75 % de carbohidratos y 16-31 % de proteínas (Grusack 2009). Este hecho hace que se haya constituido en un elemento importante de la dieta en muchas partes del mundo, como en el sur de Asia donde una gran parte de la población es vegetariana, constituyendo la lenteja una de sus principales fuentes de aporte proteico (Sigh 1999). El contenido en lípidos es bajo, predominando claramente el contenido en grasas insaturadas sobre las saturadas (Urbano y col. 2007).

TABLA 1: Composición de la semilla lenteja seca (por cada 100 g de materia seca).

<b>Componente</b>	<b>Rango de valores publicados</b>	<b>Valores medios</b>
Energía (KJ)	1.418-2.010	1,638
Proteínas (g)	15,9-31,4	28,3
Carbohidratos (g)	43,4-74,9	67,1
Lípidos (g)	0,3-3,5	2,5
Fibra total (g) <sup>1</sup>	5,1-26,6	12,2
Cenizas (g)	2,2-6,4	2,2

Fuente: Grusack (2009).

<sup>1</sup> La gran diferencia en contenido de fibra se debe a valores de semillas completas o descascarilladas, lo que también afecta en parte a otros componentes.

El ácido fólico destaca notablemente entre las otras vitaminas que contiene la lenteja, que son la vitamina C, B<sub>3</sub>, ácido pantoténico, B<sub>6</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> biotina, vitamina E, colina, vitamina A, K y D (Grusack 2009). Con la excepción de las dos primeras, el

resto de las vitaminas aumenta marcadamente su contenido durante la germinación, justificando así su consumo en forma de brotes germinados. (Yadav y col. 2007). Respecto a los minerales, no sólo presentan alto contenido en hierro como bien afirma la cultura popular, sino que son una fuente importante de otros minerales esenciales en la dieta como calcio, potasio, fósforo y cinc (Grusack 2009). Sin embargo, este contenido no siempre está asociado a su disponibilidad, pues ésta puede ser baja debido a la presencia de componentes antinutritivos, como los fitatos, que poseen el potencial para unirse a los minerales reduciendo así su biodisponibilidad (Thavarajah y col. 2009).

En relación con el concepto de antinutritivos, palabra con aparente connotación negativa, comienza a cambiar su acepción al estar relacionados muchos de ellos con beneficios para la salud en los conocidos como alimentos funcionales. Así, por ejemplo, los fitatos son considerados componentes antinutritivos, ya que inhiben la absorción de minerales, pero recientemente se ha observado que tienen propiedades anticancerígenas en relación al cáncer de colon, de próstata, de pecho y leucemia (García de Diego y col. 2008). En el caso de la lenteja y otras leguminosas, algunos componentes antinutritivos, como inhibidores de proteasas, polifenoles, taninos o saponinas, junto con otros componentes fitoquímicos, están siendo estudiados, habiéndose ya confirmado, por ejemplo, una relación entre la ingesta de lentejas con una disminución del colesterol y las grasas, así como una menor incidencia del cáncer de colon y de la diabetes del tipo II (Roy y col. 2010) y una estimulación del sistema inmunológico (Champ 2002, Mathers 2002).

Aparte del consumo por el hombre, su grano seco ha sido utilizado también en alimentación animal, así como la planta completa como forraje. Aunque como forraje, no es una especie demasiado útil, debido por una parte a las reducidas producciones que pueden obtenerse en comparación con otras forrajeras, y por otra parte, porque el mayor valor que se obtiene en su cultivo es comercializando el grano. Pero lo que sí parece ser es que el valor nutritivo de su paja es mayor que el de otras leguminosas, como la veza, o que el de otros cultivos más importantes, como el trigo (Haddad y Husein 2001).

## *Introducción*

Sin olvidarnos de otro uso típico como abono verde, actualmente se están investigando otras posibles nuevas aplicaciones de este cultivo, con objeto de aumentar su valor añadido. Un buen ejemplo de esto son los aislados proteicos hidrolizados y péptidos bioactivos para mejorar las propiedades funcionales en la formulación de alimentos (Boye 2008), o su inclusión en dietas para tratamientos clínicos específicos, como por ejemplo, el caso de hidrolizados hipoalergénicos para evitar alergias alimentarias, (Millán y col. 2006).

Otras aplicaciones alternativas que han sido propuestas son: como absorbentes de metales pesados como el cobre (Aydin y col. 2008); como fuente de nitrógeno para la producción de ácido láctico en fermentaciones anaerobias (Altaf y col. 2007); o como fuente de peroxidasas empleadas para análisis clínicos, obtenidas a partir de la paja de lenteja cosechada ([www.agrodigital.com](http://www.agrodigital.com), 14/09/2010).

Para rematar esta breve reseña sobre los usos, no podemos por menos que citar una curiosidad. Se dice que, según Plinio el Viejo, cuando se transportó en barco el Obelisco de la Plaza de San Pedro desde Egipto a Roma fue necesario usar más de 800 tm de lentejas para acomodar y proteger el Obelisco, cifra ligeramente variable dependiendo de la fuente. Probablemente esta variación se debe a que Plinio aportó el dato usando el celemín como medida, y éste es variable dependiendo lugares y épocas. Y también dependiendo de la fuente, la función de las lentejas pudo haber sido de lastre del barco para evitar la deriva por el peso del obelisco, o era paja de lenteja que servía de protección para evitar su rotura..., incluso hay quien dice que es el propio obelisco el que está relleno de lentejas. No justificaremos este párrafo con ninguna cita particular, invitando al lector a que indague por si mismo acerca de esta curiosidad histórica.

### **1.1.3.- SOBRE SU SISTEMÁTICA**

La lenteja pertenece al género *Lens* Miller, un género pequeño pero genéticamente descrito como diverso (Ladizinsky y Abbo 1996), en el que todas sus especies poseen el mismo número de cromosomas ( $2n=14$ ). Está encuadrado dentro de la tribu Vicieae de la subfamilia Papilionoidae, familia de las Fabaceae. Conviene matizar al respecto, para consensuar la información disponible, que Papilionaceae o



Leguminosae son sinónimos publicables para la familia Fabaceae según el artículo 18, en su apartado 5, del Código de Viena (McNeill y col. 2006).

En la actualidad se consideran seis especies dentro del género *Lens*, aunque las relaciones filogenéticas entre las distintas especies que lo forman han sido objeto de una notable discusión científica, habiéndose revisado la composición de este género por diversos autores utilizando diversas técnicas, como las citogenéticas, morfológicas o las moleculares (Williams y col. 1974; Ladizinsky y col. 1984; Oss y col. 1997; Ferguson y col. 2000; Durán y Pérez de la Vega 2004). En estos estudios se ha ido modificando el número de especies y subespecies dentro del género, llegando a resultados contradictorios. Esto es consecuencia del propio proceso evolutivo, ya que las especies de *Lens* Miller comparten muchas características estructurales y bioquímicas, y las relaciones obtenidas entre ellas han dependido del propio material objeto de estudio como las técnicas para realizar dichos estudios. Por consiguiente, pequeñas diferencias pueden ubicar ciertos materiales en distintos grupos, no siendo un error, si no consecuencia de una evolución divergente (Cubero y col., 2009).

En la actualidad, la clasificación más aceptada (Pérez de la Vega y col. 2011) es la aportada por Van Oss y col. (1997):

*Lens culinaris* Medik.

*Lens culinaris* Medik. subsp. *culinaris* (especie cultivada)

*Lens culinaris* Medik subsp. *orientalis* (Boiss.) Ponert

*Lens odemensis* (Godr.) Ladiz.

*Lens ervoides* (Brign.) Grande

*Lens nigricans* (M. Bieb.) Godr.

*Lens tomentosus* Ladiz.

*Lens lamottei* Czefr.

Aunque la discusión puede continuar, porque recientes análisis filogenéticos indican que (Pérez de la Vega y col. 2011):

- a) *L. nigricans* presenta una posición divergente respecto al resto de especies de *Lens*.

## Introducción

- b) La estrecha relación entre *L. c.* subsp. *culinaris* y *L. c.* subsp. *orientalis* apoya su estatus subespecífico, al haber una gran similitud.

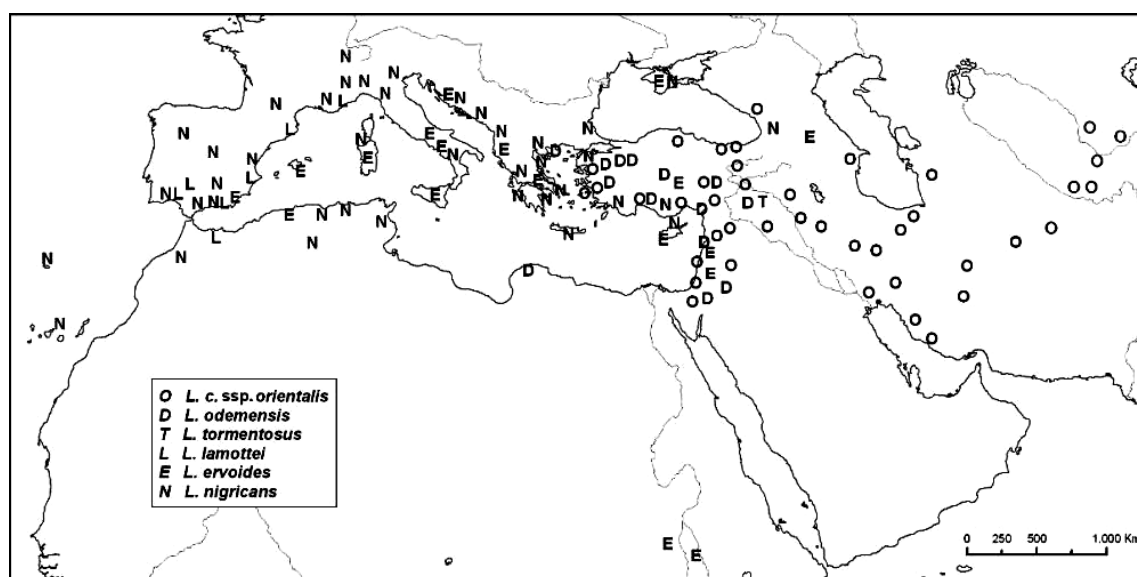
Las relaciones entre los otros taxones son menos claras, sin embargo:

- 1.- *L. tomentosus* es el taxón hermano de *L. culinaris*.
- 2.- *L. lamottei* probablemente es lo más próximo a *L. ervoides*.
- 3.- *L. odemensis* generalmente se une al grupo *orientalis-tomentosus*.

La distribución geográfica de cada una de las especies silvestres se ilustra a través de la Figura 2. En general, la variabilidad genética en lenteja es mayor en o cerca del área donde la lenteja fue domesticada, el Creciente Fértil (Pérez de la Vega y col. 2011).

*L. culinaris* subsp. *orientalis* se distribuye desde Grecia hasta Uzbekistán, y desde la Península de Crimea hasta Jordania. *L. odemensis* y *L. tomentosus* se reparten por Oriente Próximo, si bien *L. tomentosus* se focaliza más en Siria y Turquía. *L. lamottei* se distribuye por el Mediterráneo occidental (Francia, España y Marruecos), mientras que *L. ervoides* y *L. nigricans* tienen una distribución más amplia, desde Israel hasta España, pero *L. ervoides* además está en Etiopía y Uganda, y *L. nigricans* por las Islas Canarias y Norte de África (Sonnante y col. 2009).

FIGURA 2: Distribución de los taxones silvestres de *Lens* Miller (Cubero 1981).



Acerca de la subespecie cultivada, la clásica clasificación en los grupos Macrosperma (antigua *L. c.* subsp. *culinaris* var. *vulgaris*) y Microsperma parece guardar en realidad muy poca relación con la distribución entre países, o con los resultados de diversos estudios de variabilidad que no discriminan entre ambos tipos (Sonnante y col. 2009), indicando una evolución casi simultánea desde *L. c.* subsp. *orientalis*. Durán y Pérez de la Vega (2004), en un estudio de diversidad genética mediante marcadores moleculares, tampoco discriminaron entre ambos tipos de lenteja. En cambio, otros autores sí definen cierta separación, como Sharma y col. (1996), en un estudio basado en AFLP, que sugieren una afinidad más cercana entre los tipos Macrosperma y *L. c.* subsp. *orientalis*.

En España, como se observa en la Figura 2, se encuentran las especies silvestres *L. nigricans*, *L. lamottei* y *L. ervoides*. Y dentro de la especie cultivada, tradicionalmente se han cultivado los siguientes tipos varietales (Nadal y col. 2004): Dentro de las macrospermas, “Castellana”, “Lentejón” o “Reina” y “Armuña”, contando esta última en la actualidad con una figura de calidad en forma de Indicación Geográfica Protegida (I.G.P.). Dentro de las microspermas, se han cultivado dos tipos principales: la lenteja “Pardina” (correspondiente a la antigua *L. c.* subsp. *culinaris* var. *variabilis*), y la “Verdina” (antigua *L. c.* subsp. *culinaris* var. *dupuyensis*).

### 1.1.4.- REMONTÁNDONOS EN EL TIEMPO

La lenteja (*Lens culinaris* Medik.) fue una de las primeras especies vegetales domesticadas en el Creciente Fértil, habiéndose extendido a lo largo de la historia por los cinco continentes y por gran diversidad de ambientes, cultivándose desde zonas frías a regiones tropicales (Pérez de la Vega y col. 2011). Ha llegado a constituirse como un cultivo de gran interés por ser un alimento rico en proteínas o por su afamada riqueza en hierro. De hecho, hoy en día la lenteja es altamente valorada al constituir un alimento fundamental de la dieta mediterránea (Muzquiz 1997).

Según los restos arqueológicos encontrados, se considera a la lenteja como una de aquellas especies que nuestros ancestros, junto con trigos, guisante y cebada, comenzaron a cultivar. Esto ocurrió después del frío periodo conocido como “Younger

## Introducción

Dryas” (aprox. 10.700 – 9.500 años a. C.), en una pequeña región situada entre el Norte de Siria y el Sureste de Turquía, cerca del nacimiento de los ríos Tigris y Éufrates, y considerada la auténtica cuna de la agricultura (Lev-Yadun y col. 2000).

Sin embargo, es probable, en función de los restos arqueológicos más antiguos encontrados hallados en la Cueva de Franchthi, en Grecia (Zohary 1972, Zohary y Hopf 1993, Sonnante y col. 2009), datados 11.000 años a. C., que antes de todo esto el hombre ya recogiera lenteja, directamente del campo en formas silvestres, o por medio de prácticas pre-agrícolas. Hay evidencias recientes que sugieren que el cultivo se llevó a cabo por el hombre mucho antes de que se fijasen dos de los rasgos de la domesticación (descenso de la dehiscencia de las vainas y la falta de dormancia de las semillas) (Pringle 1998; Balter 2007). No es hasta los hallazgos de lentejas, datados en el 5º milenio a. C., en los primeros asentamientos agrícolas en Europa cuando se puede decir que la domesticación de la lentejas ya había tenido lugar (Sonnante y col., 2009).

En cuanto al progenitor silvestre del que provienen las lentejas cultivadas, Barulina en 1930, posteriormente apoyado por Zohary (1972) y más recientemente por numerosos estudios basados en información morfológica y molecular (Sonnante y col. 2009), han propuesto a *Lens culinaris* subsp. *orientalis* como protagonista de este papel. De hecho, Sonante y col. (2009) en función de diferentes investigaciones realizadas por diferentes autores, publican la evidencia de que la lenteja cultivada no sólo procede de su subespecie hermana, sino que además procede de una población específica donde se generaron los primeros mutantes que desencadenaron en la domesticación del cultivo.

Por otra parte, en apariencia, podría considerarse que no fue *L. culinaris* la única especie sujeta a proceso de domesticación dentro del género *Lens*, pues Ladizinsky y col. (1983) sugirieron la posibilidad de que *Lens nigricans* podría haber estado también sometida a un proceso de domesticación, en función de su amplia zona de distribución y el bajo nivel de polimorfismo que parece presentar.

En cuanto a su expansión, probablemente se produjese a la vez que otras especies domesticadas en el Creciente Fértil (Pérez de la Vega y col. 2011). En función de la antigüedad de los restos fósiles hallados, el cultivo de la lenteja se fue difundiendo

durante el Neolítico a la isla de Chipre, comenzando a extenderse por Europa vía el valle del Danubio, y por el valle del Nilo a Etiopía. Hacia el Oeste parece no haber llegado a la India y Pakistán hasta el 2500 a. C. (Erskine 1997).

En la Península Ibérica, los restos de lenteja más antiguos aparecen, junto con otros importantes cultivos como cebada, trigo y guisante, en Alicante, en el yacimiento conocido como “Cova de les Cendres” (Cueva de las Cenizas), tendrían una antigüedad de 7.500 años. Según el tamaño de la semilla, esos primeros restos arqueológicos encontrados en la Península Ibérica corresponderían a una lenteja del tipo *Microsperma* (Buxó 1997).

Considerando los escasos rendimientos que presentaban aquellos primeros representantes silvestres, podría resultar difícilmente comprensible qué llevó al ser humano a domesticar esta especie. El hecho es que con el tiempo, la lenteja se llegó a convertir en un alimento de primera necesidad. Esto ha quedado plasmado a lo largo de la historia, en distintas culturas como la egipcia, griega o la romana, donde numerosos escritos demuestran el gran aprecio que otorgaban a la lenteja como alimento (Collis y col. 1978, Preiss y col. 2005; Cubero y col. 2009), o incluso según Dioscórides como planta medicinal (Font Quer 1995). Aunque también es cierto que ya desde aquellos tiempos, a la lenteja se la empezó a considerar un “alimento para pobres”. Así Juvenal, escritor romano del siglo I, describía que “la gente pobre cocinaba las lentejas con las vainas incluidas” (Cubero y col. 2009). O en la propia Biblia (Génesis 25:34), donde se puede leer: “*Entonces Jacob dio a Esaú pan y guisado de lentejas; y él comió y bebió, se levantó y se fue. Así menospreció Esaú la primogenitura*”. Y en la Edad Media ya era considerado un cultivo menor (Pérez de la Vega y col. 2011).

### **1.1.5.- PINCELADAS SOBRE AGRONOMÍA**

En general, la lenteja se ha cultivado tradicionalmente en suelos marginales, en condiciones de secano y en rotación con cereal (Alonso y Cristóbal 1996). En Castilla y León, en la comarca de La Armuña se ha sembrado en otoño lenteja tipo *Macrosperma*, conocida como “Castellana”. En las comarcas de Tierra de Campos y los Oteros se ha sembrado a finales del invierno lenteja tipo *Microsperma*, “Pardina” o “Verdina”.

## *Introducción*

Los terrenos más adecuados son aquellos sueltos y profundos, con buen porcentaje de materia orgánica y abundancia en óxido de hierro para favorecer la calidad de la cosecha (Mauri y col. 2003). Crecen bien en suelos ácidos o alcalinos con pH comprendido entre 5,5 y 9,0 (Saxena y Hawtin 1981). Aunque en suelos excesivamente fértiles se desarrollan mucho, en perjuicio de la fructificación (Alonso y Cristóbal 1996). Es muy sensible a la salinidad del suelo, y le perjudican los rocíos intensos (Guerrero 1999).

Son plantas que se adaptan bastante bien a la sequía (Alonso y Cristóbal 1996), aunque su momento más crítico es en la floración, (Nadal y col. 2004)). Son muy sensibles al encharcamiento, siendo muy mal tolerado por la lenteja (Alonso y Cristóbal 1996).

La preparación del terreno para la siembra es la típica de cualquier cultivo de secano, sembrando tradicionalmente a finales del invierno. Según el genotipo de lenteja y condiciones agroclimáticas la densidad de siembra varía entre 200-300 plantas/m<sup>2</sup>, y la distancia entre líneas entre 12-15 cm (Alonso y Cristóbal 1996), lo que supone de 80 a 140 kg/ha según sea *Microsperma* o *Macrosperma*, respectivamente.

En España no es normal abonar la lenteja (Guerrero 1999), aunque se debería hacer en función de las extracciones del cultivo y análisis de suelo. El fósforo parece mejorar las cualidades culinarias. Y en cuanto a los microelementos, la lenteja presenta sensibilidad a la carencia de cinc.

La recolección de la lenteja se ha realizado tradicionalmente mediante siega y posterior trilla, y también se emplean cosechadoras de cereales (Nadal y col. 2004).

La lenteja es una planta que compite mal contra las malas hierbas por su lento crecimiento y bajo porte (Rodríguez y col. 2003, 2004), siendo uno de los mayores limitantes de su cultivo, sobre todo en siembras tempranas (Materne y Siddique 2009). Además, al ser un cultivo menor, la oferta de herbicidas efectivos es escasa, y géneros como *Polygonum* sp., *Chenopodium* sp., *Sinapis* sp., *Cirsium* sp. o *Convolvulus* sp.,

pueden llegar a ser un problema para muchos agricultores. Aunque en otros países, como solución, se están desarrollando variedades de lenteja “Clearfield®”, resistentes a herbicidas de la familia de las imidazolinonas (Pazos 2007, Rodríguez y col. 2012), desarrolladas por la multinacional química BASF.

Otra mala hierba potencialmente importante es el jopo (*Orobancha* sp.), planta parásita, de la que se está detectando un aumento y expansión de sus poblaciones (Rubiales y col. 2008) pudiendo llegar a ser un serio problema, o incluso causa de abandono del cultivo (Alonso y Cristóbal 1996).

Las plagas más importantes de la lenteja son el gorgojo (*Bruchus* sp.), la sitona (*Sitona* sp.) y los pulgones (*Aphis* sp.). Los gorgojos destacan entre la tres por los graves daños que causan a la cosecha depreciándola notablemente al hacerla inservible para el consumo humano (Pérez y col. 2004).

En cuanto a las enfermedades, destacan en nuestro país los hongos, *Ascochyta* sp. y *Fusarium* sp. (Nadal y col. 2004), aunque normalmente no llegan a constituir un problema serio para el cultivo salvo en primaveras muy húmedas. En otras zonas del mundo llegan a ser los principales problemas del cultivo (Taylor y col. 2007).

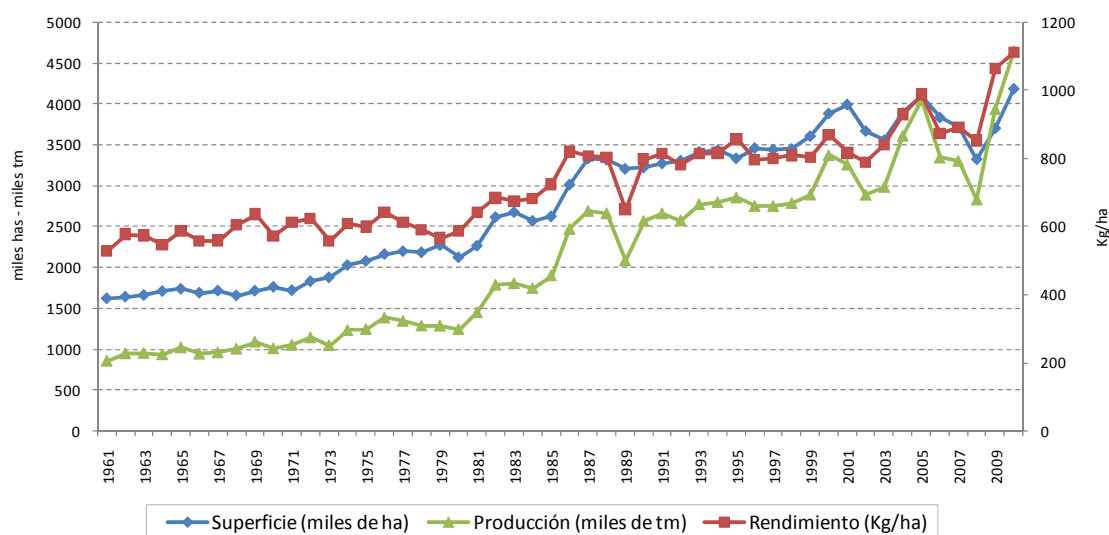
La lenteja se engloba dentro de los cultivos conocidos como “mejorantes”, por su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, conservar la estructura del suelo y disminuir el consumo de los cada vez más caros insumos. Sin embargo, es un cultivo que parece no terminar de convencer al agricultor para decidirse a sembrarlas. Las razones de ello pudieran estar reflejadas en los resultados de una encuesta acerca de las razones por las que no se cultivan leguminosas grano, realizada a 52 agricultores castellano-leoneses en el año 2005 gracias al Proyecto Europeo GL-Pro (Bengoechea y col. 2006). En ella las razones que dieron fueron: escasos e inestables rendimientos, elevados costes de la semilla, insuficientes subvenciones de la P.A.C., desconocimiento del cultivo, falta de competitividad y problemas de cosecha.

## 1.2.- SU SITUACIÓN ACTUAL

### 1.2.1.- EN EL MUNDO

A la vista de la Figura 3, el cultivo de la lenteja en los últimos casi cincuenta años ha seguido una tendencia progresiva general en aumento, especialmente notable en la década de los 80. Así, la superficie prácticamente se ha duplicado desde el año 1961, en el que se cultivaban  $1.619 \times 10^3$  ha, hasta el año 2007 en que la superficie sembrada fue de  $3.751 \times 10^3$  ha. Este aumento probablemente se debe a la expansión de este cultivo en países como India, Canadá y Australia. Esta situación creciente, parece haberse ralentizado durante la última década. Refiriéndonos a las producciones, la tendencia positiva ha sido aún más acusada, habiéndose cuadruplicado en el mismo periodo considerado anteriormente: se ha pasado de las  $854 \times 10^3$  tm obtenidas en 1961, a  $3.543 \times 10^3$  tm en 2007 (Figura 3). En cuanto a los rendimientos, en líneas generales podría hablarse de un incremento medio mundial aproximado del 50% en este último medio siglo, pasando de los cerca de 600 kg/ha que se obtuvieron de media a comienzos de los 60 hasta los cerca de 900 en la primera década del siglo XXI.

FIGURA 3: Evolución de la superficie, producción y rendimiento en el mundo.

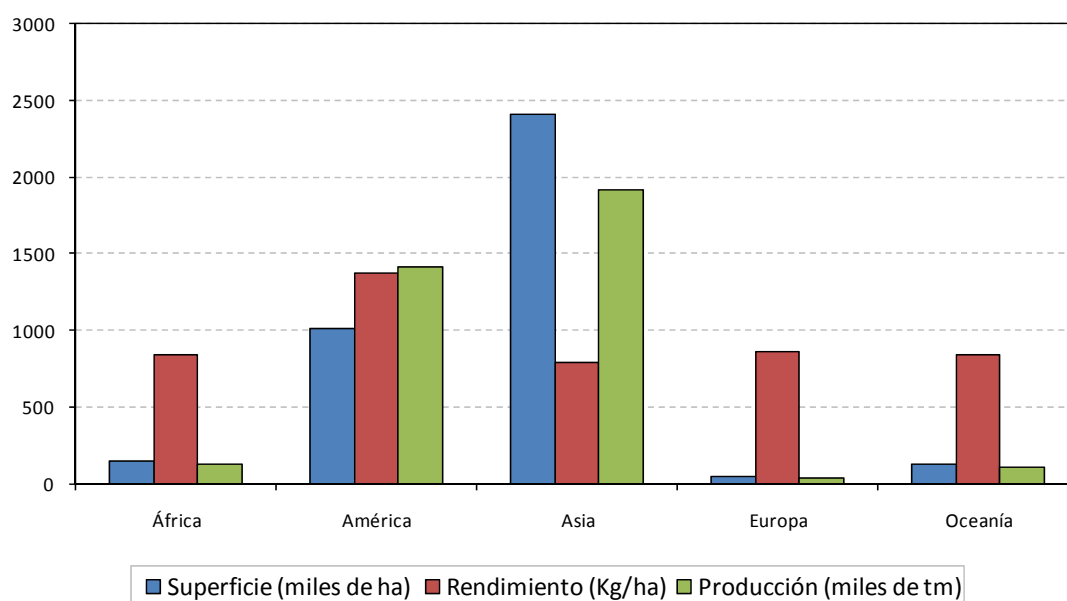


Fuente: elaboración propia a partir de datos FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).



En cuanto a la distribución del cultivo de lenteja, lo referente a los últimos años por continentes se puede ver en la Figura 4, siendo Asia el continente que más superficie dedica a este cultivo con cerca de  $2.400 \times 10^3$  ha de media entre los años 2006 a 2010, seguido de América del Norte con unas  $1.000 \times 10^3$  ha. Puede considerarse también a esos dos continentes como los grandes productores, con producciones anuales medias de  $1.900 \times 10^3$  tm en ese periodo en el caso de Asia y de  $1.400 \times 10^3$  tm en el de América del Norte. Sin embargo, hay una diferencia apreciable en cuanto a los rendimientos entre ambos continentes: cerca de 1.400 kg/ha de media entre los años 2006 y 2010 en América del Norte frente a unos 800 kg/ha en Asia.

FIGURA 4: Distribución por continentes de la superficie, rendimiento y producción de lenteja en 2006-2010.



Fuente: elaboración propia a partir de datos FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).

Por países, y considerando de nuevo el promedio desde el año 2005 al 2009, los principales productores son India, Canadá y Turquía, (Tabla 2). Atendiendo al “negocio”, el principal país exportador es sin duda Canadá, seguido muy de lejos por Turquía y la India. Mientras que los principales importadores son India, Bangladesh, Turquía, Sri Lanka y Egipto, (FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>)).

TABLA 2: Principales países en el comercio mundial de lentejas (miles de tm).

Principales productores		Principales importadores		Principales exportadores	
India	952,280	India	129,379	Canadá	585,144
Canadá	798,280	Bangladesh	102,603	Turquía	198,825
Turquía	561,573	Turquía	99,511	India	124,452
Estados Unidos	195,720	Sri Lanka	95,159	Estados Unidos	120,155
Nepal	158,401	Egipto	85,469	Australia	105,226
Siria	147,431	Pakistan	71,470	Siria	104,792
China	134,400	Emiratos Árabes	70,801	UE27	28,078
Bangladesh	118,289	Argelia	66,836	China	26,310
Australia	116,847	Colombia	63,311	Nepal	14,436
Irán	111,059	España	50,130	Emiratos Árabes	11,187

Fuente: elaboración propia a partir de datos FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).

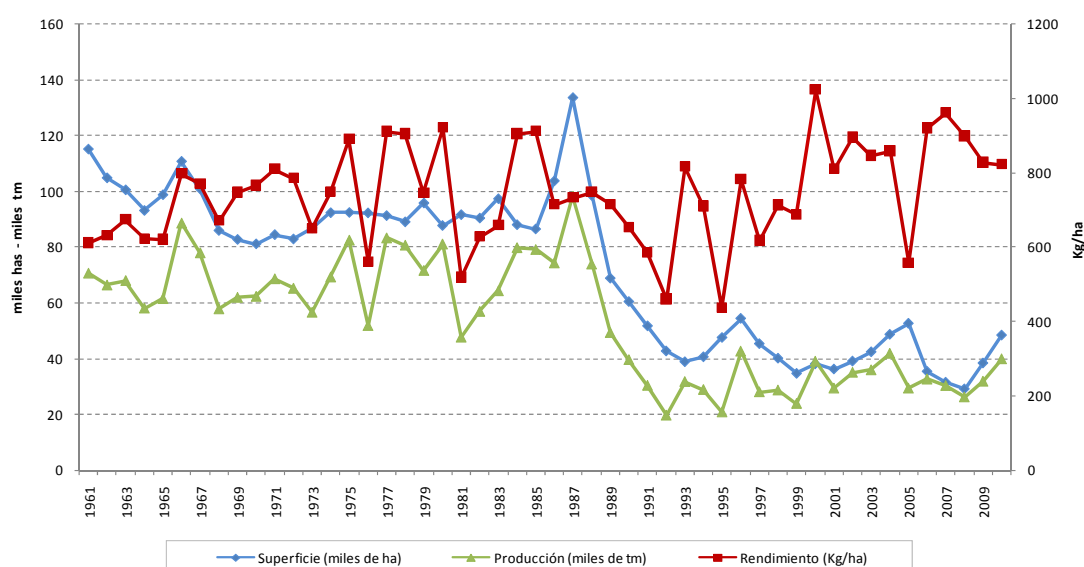
### 1.2.2.- EN LA UNIÓN EUROPEA (UE 27)

En función de la Figura 5, la situación descrita en el último medio siglo para este cultivo de un aumento a nivel mundial en superficie y rendimiento, no parece desde luego extrapolable al caso de la Unión Europea. De hecho, pese a una situación más o menos fluctuante, tendente a la baja a finales de los 60 y relativamente estable hasta mediados de los 80, la superficie dedicada al cultivo de la lenteja ha quedado reducida prácticamente a la cuarta parte que hace unos 50 años, cultivándose apenas 48.500 ha en 2010, y esto pese al evidente pico tras el año 1985, donde se produjo un espectacular aumento del 54% en sólo dos años (en 1987 se llegaron a sembrar cerca de 134.000 ha). Posteriormente, y en un periodo también breve de 6 años, la superficie se redujo un 70%. Después ha continuado la tendencia progresiva en suave disminución hasta hoy en día.

La producción ha seguido una tendencia global muy similar, si bien la línea asociada en la Figura 5 está afectada por una gran variabilidad interanual, motivada probablemente por la bondad del año agronómico, que se refleja especialmente en la fluctuación de los rendimientos de una campaña a otra, no siendo raras las oscilaciones de hasta un 30 %. A este respecto, se ponen de manifiesto dos problemas principales del cultivo en Europa, que pueden haber sido parte de los detonantes que hayan motivado su abandono progresivo: en primer lugar, esa inestabilidad en los rendimientos que no

parece haberse ido corrigiendo con los años. En segundo lugar, y pese a que en apariencia haya podido haber una ligera tendencia positiva en el aumento de los rendimientos, pasando de unos 600 kg/ha a comienzos del periodo considerado, a unos 900 kg/ha cincuenta años más tarde, cuando se observa la información global de la gráfica (Figura 5) no puede asegurarse con certeza que ese incremento sea tan real ni, por supuesto, cuantificable.

FIGURA 5: Evolución de la superficie, producción y rendimiento en la UE27.



Fuente: elaboración propia a partir de datos FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).

Es decir, la situación en cuanto a los rendimientos de este cultivo en el caso de la Unión Europea no parece haber variado sustancialmente, ni parecen haberse solucionado sus problemas, en los últimos 50 años, frente a lo que ha ocurrido con otros cultivos como la cebada, que ha duplicado su rendimiento en el mismo periodo de tiempo, o el trigo que ha llegado casi a triplicar su rendimiento (FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>)).

En cuanto a la distribución del cultivo por países, sólo 12 de los 27 Estados Miembro cultivan lentejas. Los estados con más superficie cultivada son los que pertenecen a la cuenca mediterránea, destacando notablemente España que representa más del 45% del total de Europa entre el 2006 y 2010 (Tabla 3). No ocurre así con el rendimiento, donde España, con 670 kg/ha, dista mucho de Hungría, Croacia y Francia

## Introducción

que llegan a duplicar y triplicar los rendimientos españoles. A pesar de ello, España es el mayor productor de la Unión Europea, y junto con Francia cosecha más del 65% del total europeo.

TABLA 3: Promedio de la superficie, producción y rendimiento de lenteja entre 2006 y 2010 en los países de la UE27.

<b>Estados Miembro</b>	<b>Superficie (ha)</b>	<b>%</b>	<b>Producción (tm)</b>	<b>%</b>	<b>Rendimiento (kg/ha)</b>
España	20754,0	45,56	13440,2	34,49	670,70
Francia	9223,0	20,25	12244,4	31,43	1312,28
Fed Rusia	8760,0	19,23	6585,0	16,90	739,50
Grecia	2215,6	4,86	2622,4	6,73	1196,52
Italia	1937,2	4,25	1398,2	3,59	723,36
Bulgaria	1811,0	3,98	1827,4	4,69	1038,10
Eslovaquia	506,8	1,11	463,0	1,19	896,18
Hungría	142,2	0,31	199,0	0,51	2133,70
ex Yugoslavia	91,0	0,20	83,4	0,21	932,96
Croacia	58,0	0,13	76,8	0,20	1420,88
Ucrania	52,0	0,11	21,4	0,05	610,00
República Checa	4,0	0,01	2,0	0,01	500,00
<b>UE27</b>	<b>45554,8</b>	<b>100</b>	<b>3963,2</b>	<b>100</b>	<b>1014,52</b>

Fuente: elaboración propia a partir de datos FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).

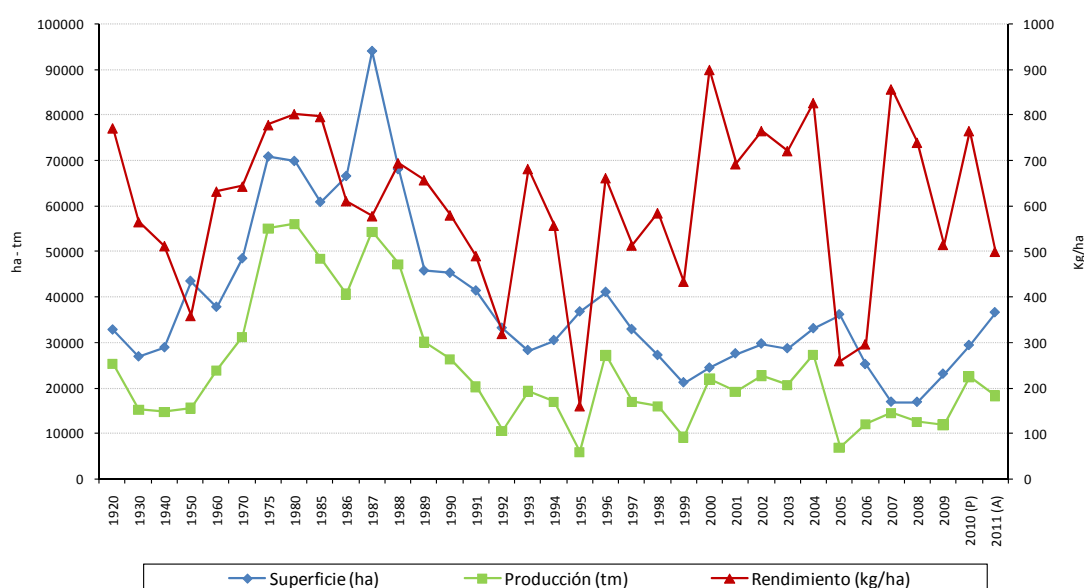
Referente al volumen de negocio y satisfacción de sus necesidades, la Unión Europea presenta una situación peculiar en la que exporta casi lo mismo que produce (28.000 tm frente a 33.000), pero sin embargo está en una clara situación de déficit en cuanto a este producto, constituyéndose en el principal importador mundial con más de 150.000 tm al año (dato calculado a partir de base de datos de la FAO considerando el promedio entre los años 2005–2009), traduciéndose en un nivel muy bajo de autoabastecimiento.

### 1.2.3.- EN ESPAÑA

Para el caso de nuestro país, ampliaremos el espectro de años en estudio y nos remontaremos a los comienzos del siglo pasado, en concreto a los años 20, cuando en España se cultivaban unas 30.000 ha de lenteja. Desde esos años, la superficie del cultivo siguió una línea claramente ascendente, especialmente a principios de los 70 y hasta el año 1987, donde se alcanzó el máximo de superficie sembrada en España

(94.100 ha). Fue a partir de ese año cuando las cifras cayeron vertiginosamente durante 5 años hasta situarse por debajo de 30.000 ha, valores inferiores a los de los años 40. Desde finales de los 80 hasta nuestros días la superficie ha continuado reduciéndose, sembrándose en la actualidad apenas el 30 % de lo que se sembraba en aquella época. Según las estadísticas del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, la superficie sembrada en España, en 2010, fue de 28.600 ha (Figura 6).

FIGURA 6: Evolución de la superficie, producción y rendimiento de lenteja en España.



(P): Provisional. (A): Avance.

Fuente: elaboración propia a partir de estadísticas del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

Este fuerte descenso desde el año 1987 se atribuye a la entrada de España en la Unión Europea en el año 1986, que produjo un desequilibrio en el mercado español al ofertarse lenteja procedente de otros países a precios inferiores a la lenteja de producción nacional (Resa 1994). Esta nueva situación, junto con otros factores, como pudieron ser la poca atención prestada a la mejora genética del cultivo, la escasez de oferta de variedades competitivas en el mercado y su olvido por parte de la P.A.C. durante aquellos años (Alonso y Cristóbal 1996), se tradujo en un abandono del cultivo por parte de muchos agricultores. Sin embargo, el consumo de lenteja por habitante y año no disminuyó, lo que produjo en paralelo un fuerte aumento de las importaciones, procedentes de países como Canadá, Estados Unidos y Turquía principalmente (Murcia

## *Introducción*

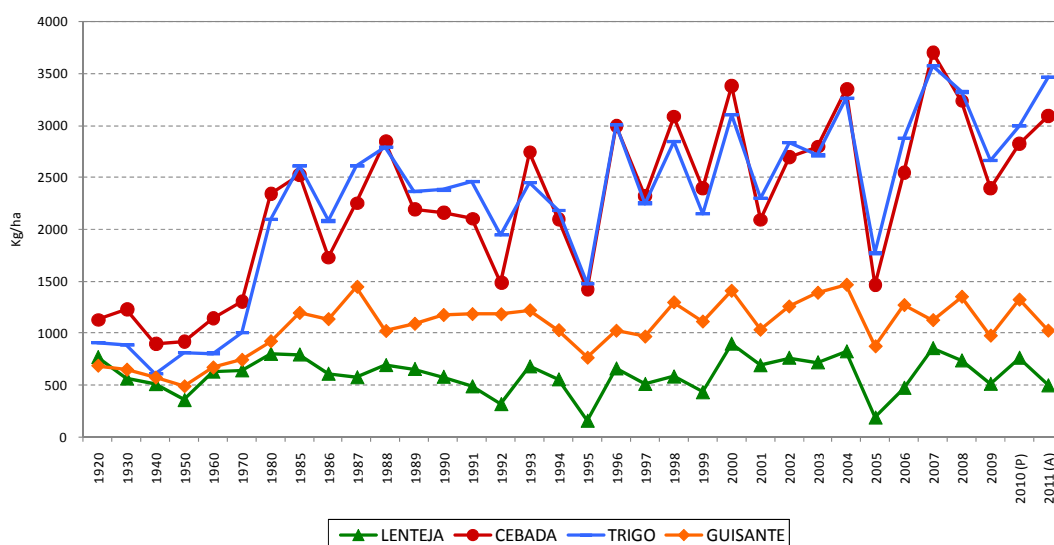
2009, Alonso y Cristóbal 1996). Esta situación permanece hasta hoy en día, donde las lentejas durante la campaña 2010-2011 han supuesto casi la mitad de las importaciones extracomunitarias de leguminosas grano, sin incluir al guisante seco, que proceden principalmente de Canadá y una mínima parte proceden del mercado intracomunitario, básicamente de Portugal. España es, por lo tanto, un importador neto de lentejas (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, [www.magrama.es](http://www.magrama.es)).

La evolución de las producciones, al igual que en el caso europeo, siguió una tendencia paralela a la de las superficies, afectada de nuevo por fluctuaciones debidas a la bonanza del año agronómico y su influencia en los rendimientos. Si se considera el espectro anual expuesto en el caso europeo, se puede apreciar la similitud y evolución prácticamente paralela del cultivo en España y en la Unión Europea, síntoma del notable peso específico que tiene España, pues supone casi el 50% de la producción de la Unión Europea.

Sin embargo, la línea referente a evolución de los rendimientos en la Figura 7 para el caso español, parece manifestar de forma aún más acusada el problema de la falta de estabilidad interanual de los mismos. Pero lo que aún es más grave, la evolución de los rendimientos medios no parece haber aumentado, no ya sólo desde los años 60, sino que está estancados desde los años 20, es decir desde hace casi un siglo (Figura 7). Si comparamos esta situación con otros cultivos, unido al problema del desequilibrio de precios entre la oferta del producto español frente al foráneo, parece más que comprensible la situación tendente al abandono del cultivo que parece seguir España.

En cuanto a las comunidades autónomas más productoras, éstas son Castilla La Mancha, que con unas 28.000 ha cultivadas en 2011, representa más del 80% de la superficie española y es la que dicta la evolución de este cultivo en España. Después, muy de lejos, la siguen Castilla y León y Madrid con 7.400 ha y 740 ha aproximadamente, en la misma campaña (Avances de superficies y producciones agrícolas, [www.magrama.es](http://www.magrama.es)).

FIGURA 7: Evolución del rendimiento de diferentes cultivos en España.



(P): Provisional. (A): Avance.

Fuente: elaboración propia a partir de estadísticas del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

En cuanto al mercado exterior España importa anualmente unas 50.000 tm, lo que supone por una parte, que sólo España absorbe un tercio de las importaciones europeas. Por otra, queda reflejado el bajo nivel de autoabastecimiento y la clara dependencia exterior al producir tan sólo un quinto de lo que importa (12.000 tm aproximadamente). La exportación es anecdótica, con 3.000 tm, pero no la demanda (Anuario de Estadística Agraria, [www.magrama.es](http://www.magrama.es)).

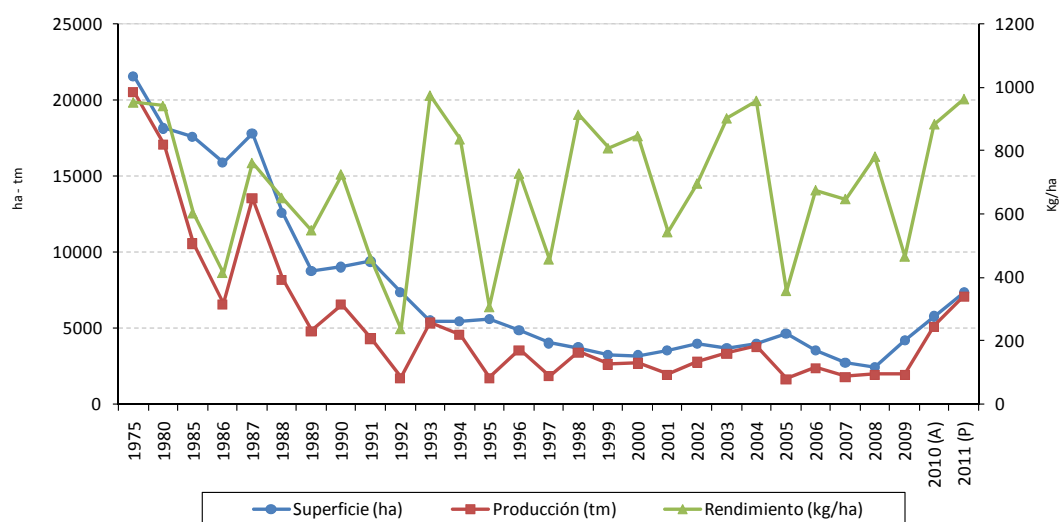
Otro problema que puede haber motivado el desinterés por parte de algunos de nuestros agricultores ha sido la irregularidad en el precio percibido por ellos, variando entre los 0,40 y 0,60 €/kg. durante los últimos años. Desde el 2004 este precio parece haber seguido una tendencia ascendente situándose en casi 0,61 €/kg, motivado posiblemente por asociarse la producción nacional con la mayor calidad. Sin embargo, esta cifra está lejana a los 0,77 €/kg que se alcanzaron en 1985 y 1986, que fueron posiblemente los responsables de ese máximo de superficie sembrada en España en el año 1987. Esta irregularidad en los precios y su disminución respecto a épocas anteriores, influenciado por el aumento de las importaciones, puede cerrar el círculo explicativo del por qué del abandono del cultivo, especialmente en aquellas zonas no amparadas por alguna figura de calidad (Alonso y Cristóbal 1996.)

### 1.2.4.- EN CASTILLA Y LEÓN

Pese a que la cultura popular parece atribuir a la lenteja un papel como cultivo tradicional y arraigado en nuestra región, la realidad de los últimos años hace que, quizás, se deba considerar este cultivo como en franca recesión, anecdótico y únicamente llevado a cabo en “pequeños” reductos que se defienden gracias a la calidad de sus productos.

Así, mientras que a mediados de los 70 se cultivaban más de 20.000 ha en Castilla y León, casi la tercera parte de la superficie nacional, la superficie anual media sembrada en los últimos cinco años apenas alcanza las 3.500 ha, escasamente la sexta parte de lo que se siembra en Castilla la Mancha o apenas tres veces de lo que se siembra en una Comunidad Autónoma como la de Madrid, que cuenta con apenas una quinceava parte de superficie agraria útil respecto a Castilla y León.

FIGURA 8: Evolución de la superficie, producción y rendimiento de lenteja en Castilla y León.



(P): provisional. (A): avance.

Fuente: elaboración propia a partir de los anuarios y boletines de información agraria de la Junta de Castilla y León.

En la Figura 8 se puede apreciar esa importante recesión durante el último cuarto del siglo pasado, y aunque parece haberse estabilizado con la entrada del nuevo milenio, no se siembra ni la quinta parte que en 1975. Similar evolución han seguido las



producciones, que salvo el “efecto 1987” ya comentado en el caso español, han tendido claramente a la baja. De hecho, la producción anual media en los últimos cinco años no alcanza las 2.000 tm, la décima parte de lo que producíamos a mediados de los 70.

A nivel provincial, en función de los datos que maneja la Junta de Castilla y León (Boletines de Información Agraria de Castilla y León), parece que hay una relación directa entre la superficie sembrada en cada provincia bajo el amparo de alguna marca de calidad (I.G.P.), con la superficie que se dedica a la lenteja en esa provincia. Es decir, el cultivo de lenteja en Castilla y León se ha ido relegando a comarcas incluidas bajo las figuras de calidad, como la I.G.P., “Lenteja de la Armuña” y la “Lenteja Pardina de Tierra de Campos”. En el resto de comarcas, el cultivo de lenteja puede describirse como puntual. Así, son Valladolid y Salamanca las provincias que representan más del 90% tanto de la superficie sembrada como de la producción en Castilla y León (Tabla 4).

TABLA 4: Superficie y producción de lenteja en Castilla y León, por provincias. Promedio 2007 – 2011.

<b>PROVINCIA</b>	<b>ha</b>	<b>tm</b>
Ávila	7,4	4,9
Burgos	27,0	26,4
León	61,0	53,4
Palencia	67,6	51,0
Salamanca	1.637,8	982,3
Segovia	36,2	41,6
Soria	89,2	159,8
Valladolid	2.535,2	2.221,2
Zamora	22,8	13,0

Fuente: elaboración propia a partir de anuarios y boletines de estadística agraria de la Junta de Castilla y León.

El aumento de la superficie de lenteja producido desde 2009 (Figura 8) está relacionado con la entrada en vigor del Plan Nacional para la Calidad de las Legumbres (PNCL), donde los incrementos significativos han estado asociados a zonas que pueden acogerse precisamente a dicho Programa, principalmente Salamanca (IGP Lenteja de la Armuña) y Valladolid (IGP Lenteja Pardina de Tierra de Campos), que son las dos

## *Introducción*

únicas denominaciones de calidad en el ámbito nacional, junto con la genérica de agricultura ecológica, reconocidas para lenteja en el Anejo XII del Real Decreto 66/2010, de 29 de enero, sobre la aplicación en el año 2010 y 2011 de los pagos directos a la agricultura y a la ganadería, referente a Leguminosas y Denominaciones de Calidad del Programa Nacional para la Calidad de las Legumbres contemplado en la sección 2ª del capítulo I del título VI.

A todo esto, la información más relevante que puede concluirse es que cerca del 80% de la superficie de lenteja sembrada en Castilla y León se hace bajo el amparo de alguna denominación de calidad, sujeta por lo tanto a una ayuda y al sobreprecio que se puede conseguir por dicho marchamo de calidad. El resto de la lenteja supone apenas 1.300 ha, lo que indica claramente el bajo interés por este cultivo por el agricultor en general cuando no puede obtener de él un sobreprecio o una ayuda para su siembra.

### **1.2.5.- ALGUNAS REFLEXIONES: AÚN ASÍ...¿PUEDE SER INTERESANTE SU CULTIVO?**

Aparte de los factores económicos y comerciales, como son la fuerte competencia con la lenteja importada y los bajos precios que alcanza, existen otra serie de factores de tipo agronómico que han contribuido a la situación actual del cultivo de la lenteja.

Los bajos e inestables rendimientos, que afectan al mercado internacional de exportaciones e importaciones (Pérez de la Vega y col. 2011), animan a los agricultores a decantarse por otros cultivos como la cebada con producciones más estables y altas de 2.800 kg/ha de media en Castilla y León, frente a los 650 kg/ha que tiene la lenteja.

En la Tabla 5 se muestra el cálculo de los beneficios de ambos cultivos para una serie de producciones considerando para la lenteja una media de rendimiento del 23% respecto de la cebada, según los rendimientos medios de Castilla y León (Boletines de Información Agraria de Castilla y León 2000-2010). Para el mismo nivel de producción se observa la situación de clara desventaja que tiene la lenteja respecto de la cebada, obteniendo los primeros beneficios positivos para la cebada en los 4.000 kg/ha, mientras

que para la lenteja hay que subir hasta los 1.160 kg/ha, que equivale a 5.000 kg/ha en cebada, lo que supone que con la cebada se obtendrían más del doble de beneficio que con la lenteja, exactamente 2,17 veces.

En nuestra región, el cultivo se ha realizado en muchos casos en forma de poblaciones locales que no han sido sometidas a ningún programa de mejora (Alonso y Cristóbal 1996). Aunque presentan en general condiciones excelentes de adaptabilidad y calidad, carece en la mayor parte de los casos de características productivas competitivas, como se ve en la Tabla 5, disminuyendo el interés de su cultivo de cara a las tendencias actuales.

TABLA 5: Comparación de los beneficios obtenidos en cebada y lenteja.

Producción (kg/ha)		Ingresos (€/ha)		Beneficios (€/ha)	
CEBADA	LENTEJA	CEBADA	LENTEJA	CEBADA	LENTEJA
1.000	232,14	135,90	107,15	-329,53	-330,07
2.000	464,29	271,81	214,31	-193,62	-222,91
3.000	696,43	407,71	321,46	-57,72	-115,76
4.000	928,57	543,61	428,62	78,18	-8,60
5.000	1.160,71	679,52	535,77	214,09	98,55
6.000	1.392,86	815,42	642,92	349,99	205,70
7.000	1.625,00	951,32	750,08	485,89	312,86

Nota: en el cálculo de los beneficios no se han considerado las ayudas y subvenciones. Para el cálculo de los ingresos se ha supuesto un precio medio percibido al agricultor para la cebada, de 0,136 €/kg, considerando el promedio desde el 2000 al 2010 (Anuario de Estadística 2011, [www.magrama.es](http://www.magrama.es)). El coste de producción de la lenteja se ha considerado el considerado en el Programa Nacional para el Fomento de Rotaciones De Cultivo en Tierras de Secano (PNFR) del 2009. Para la lenteja se ha considerado 0,461 €/kg, el precio medio de la lenteja importada durante la misma serie de años que para la cebada (FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>)). Para los cálculos de los costes de la

En la actualidad, al menos en las producciones sujetas a I.G.P., se utilizan variedades registradas al efecto, como el caso de la lenteja Guareña (I.G.P. Lenteja de la Armuña) o Paula (I.G.P. Lenteja Pardina de Tierra de Campos). Además, la lenteja padece inconvenientes aun sin solventar de manera eficaz y económica, como las malas hierbas (Rodríguez y col. 2004), que reducen notablemente el rendimiento.

Como ya se ha explicado, la lenteja ha pasado a ser un cultivo menor que ha sufrido una fuerte recesión, y al que no parece haberse dedicado suficiente esfuerzo, no sólo en su mejora y estabilización de rendimiento, sino también, a la mejora de su

## *Introducción*

aptitud para la mecanización, desarrollo de herbicidas y otros productos fitosanitarios específicos. Esto conlleva a una baja oferta de variedades comerciales adecuadas de lenteja para el agricultor así como de insumos necesarios para su correcto cultivo. Así el agricultor que decide cultivar lentejas, aunque se muestre especialmente cuidadoso en su cultivo, debe confiar en que sea un buen año para su crecimiento y desarrollo para obtener suficiente producción como para que le sea económicamente rentable.

Ante esta situación, la empresa privada no invierte en la mejora de un cultivo que no se va a sembrar, en cantidades que le sean interesantes, y si no se mejoran las deficiencias de este cultivo, no resulta atractivo para el agricultor, siendo esta situación un círculo vicioso que, si no se arregla, tiende a limitar el cultivo a aquellas “marcas” protegidas bajo figuras de calidad. Para recuperar este cultivo sería pues necesario un esfuerzo en la inversión por parte de las Administraciones Públicas para intentar recuperar este cultivo.

Pero, ¿Qué es lo que podría motivar este interés por recuperar el cultivo?

Tras la adopción del paquete legislativo conocido como “Chequeo Médico” de la Política Agrícola Común 2008, se dotó a los Estados miembros de posibilidades de financiación en función de los intereses particulares de sus políticas nacionales dentro el ámbito tanto del sector agrario, dada la heterogeneidad agrícola comunitaria.

Consecuencia de esto, en España, a través del Plan Agrario Nacional se decide impulsar una agricultura sostenible en un entorno rural favorable como uno de sus principales objetivos.

En lo que concierne este Plan a los cultivos herbáceos extensivos, en el caso español, la superficie destinada a estos cultivos lleva tradicionalmente asociada la dedicada al barbecho, orientado a la recuperación de la fertilidad y la capacidad productiva del suelo, mediante la retirada de tierras de la producción en un determinado porcentaje de la explotación, en dos modalidades: barbecho tradicional o blanco, y barbecho “semillado” o medioambiental.

Es decir, en lo hasta ahora expuesto, ya se define un claro beneficio de las leguminosas, a las que pertenece la lenteja, dentro de un marco de agricultura sostenible y respetuosa con el medio ambiente, pues son reconocidas como cultivos mejorantes del suelo, frente a la concepción de esquilmanes del resto de cultivos. Esto les otorga un valor medioambiental, que se cuantifica dentro de la rotación en el incremento del contenido en humedad del suelo, la mejora de la estructura y la fertilidad del mismo, disminución de su erosión y disminución del consumo de fertilizantes nitrogenados, así como en el control natural de plagas, enfermedades y malas hierbas.

Pero serán tan sólo los esfuerzos en investigación, que encaminados a aumentar el rendimiento, independientemente de las ayudas o subvenciones, los que definitivamente pueda romper con el círculo vicioso que motiva su bajo interés. Al respecto, la cuestión a resolver sería: ¿es factible pensar que el esfuerzo investigador puede revertir esa situación de bajos e inestables rendimientos detectada en Castilla y León?

Como colofón a este punto, retomemos la información de la Tabla 5, aparentemente de connotaciones muy negativas para la lenteja en cuanto a su interés frente a otros cultivos alternativos, como puede ser la cebada, cultivo predominante y mayoritario en los secanos castellanos y leoneses. Unos cálculos sencillos devuelven que las columnas referentes a beneficios en ambos cultivos, indicativas en definitiva de la rentabilidad, se equipararían “simplemente” considerando incrementos medios en el rendimiento de la lenteja del 26,8%. De esta forma, la famosa cuestión a resolver por la investigación se puede transformar en las siguientes: ¿Es muy descabellado pensar que en Castilla y León puedan obtenerse esos incrementos en los rendimientos de la lenteja? ¿Cuál sería la estrategia para conseguirlo y hacer de este cultivo una alternativa que, efectivamente, puede resultar rentable?

### **1.3.- LA SIEMBRA TEMPRANA EN LENTEJA**

#### **1.3.1.- INTRODUCCIÓN EN INTERÉS**

Como ya se ha visto en apartados anteriores, la lenteja se caracteriza por sus bajos e inestables rendimientos. Consecuencia de esto es que uno de los principales

## *Introducción*

objetivos en los planes de mejora de este cultivo por todo el Mundo es aumentar y estabilizar su producción en grano (Pérez de la Vega y col. 2011).

En general, el rendimiento en una planta es un carácter muy complejo resultado de cultivar un genotipo concreto en un ambiente determinado. Por ello, existen diversas estrategias para abordar su mejora, como pueden ser mejoras agronómicas, encaminadas, en general, a proporcionar condiciones ambientales más favorables para el cultivo, o mejoras genéticas, encaminadas a modificar la arquitectura de la planta, mejorar la resistencia a plagas y enfermedades, adaptar la planta a distintos ambientes, etc.

En lenteja, una de las estrategias en mejora agronómica para aumentar el potencial del rendimiento es el adelanto de la fecha de siembra de finales del invierno o comienzos de primavera al otoño, es decir, realizar siembras tempranas (Kahraman y col. 2004a). De hecho, durante la última década ha habido un considerable esfuerzo para aumentar la adaptación de la lenteja a la siembra otoñal (Stoddard 2006).

Esta estrategia de adelantar la fecha de siembra se basa en que, por un lado, la planta puede aprovechar las precipitaciones otoño-invernales, con lo que se incrementa la cantidad de agua disponible para el cultivo y la eficiencia en su uso, con el consiguiente aumento en el rendimiento potencial (Erskine 1999). Por otro lado, se disminuyen los problemas que pudieran ocasionarse a causa de la sequía terminal típica de zonas mediterráneas, al adelantar los ciclos con respecto a las siembras más tardías. Además, el índice radiación/temperatura media, parece ser óptimo en el periodo de floración al adelantar la fecha de siembra, pues al adelantarse dicho periodo la temperatura media suele ser más suave, aumenta la duración del periodo reproductivo en lo que a formación de flores se refiere, así como se incrementa la duración del periodo de formación del grano. Por otra parte, una mayor cantidad de radiación produce un mejor crecimiento durante ese periodo (Ney y Duc 1997).

De esta forma, en el caso de la lenteja, el adelanto de la fecha de siembra a una otoño-invernal (en adelante para simplificar nos referiremos a siembra invernal) ha demostrado aumentar considerablemente el rendimiento en diversos países. Así, en

Turquía la siembra invernal ha permitido aumentar los rendimientos un 100 % respecto a la primaveral (Sakar y col. 1988). En EE.UU. y Canadá los rendimientos aumentaron entre 480 y 500 kg/ha. Y como ejemplo extremo, al Sur de Italia, Fagnano y col. en 1998 indicaron unos rendimientos de 2,3 tm/ha en siembra otoñal frente a los 0,3 tm/ha en siembras realizadas en Abril (una fecha muy tardía).

En regiones de clima mediterráneo de Australia, la siembra invernal se ha traducido en un aumento del periodo vegetativo y reproductivo, un mayor desarrollo vegetativo, mejor absorción de la radiación fotosintéticamente activa, un aumento de la eficiencia del uso del agua disponible, un aumento de la materia seca y una mejora de la producción en semilla respecto a la siembra primaveral. Además, la floración y el desarrollo de las semillas se adelantaron, cuando el déficit de presión de vapor de agua y la temperatura del aire eran más bajos, permitiendo a la planta disponer de más agua después de la floración, obteniendo rendimientos mayores de 1 tm/ha aproximadamente en siembras primaverales, frente a rendimientos de hasta de 2,5 tm/ha en siembras invernales (Siddique y col. 1998). En otros ensayos semejantes, llevados a cabo en Australia, se produjo un aumento de la biomasa de entre 200 y 500 kg/ha aproximadamente, y un aumento del rendimiento de hasta 260 kg/ha por el hecho de adelantar la fecha de siembra (Chen y col. 2006).

En España, y más concretamente en Castilla y León, la situación ambiental podría declararse como semejante a la de otras de las regiones recién mencionadas: su clima mediterráneo continental, se caracteriza por una época estival seca y calurosa con inviernos largos y duros, donde la mayoría de las precipitaciones se distribuyen durante los meses de otoño e invierno. Las siembras primaverales, se asocian con baja eficiencia en el uso del agua aportado por las pluviometrías típicas de la región y los estreses por calor y sequía propios de finales de primavera, que en ocasiones se pueden dar incluso desde el mismo inicio del periodo reproductivo (Ney y col. 1994), y se traducen entre otras cosas, en abortos florales, disminución del número de flores susceptibles de formar vainas, reducción del número final de semillas por vainas o en el asurado de las semillas. En consecuencia, el cultivo de leguminosas (y de otros cultivos) en siembras primaverales en condiciones de secano también se traduce en una baja e inestable productividad.

## Introducción

Si bien no se han encontrado publicaciones específicas acerca del posible efecto en el rendimiento u otros parámetros de la lenteja, motivado por el adelanto de la fecha de siembra en la región castellano y leonesa, sí existen experiencias realizadas en el ITACyL en lenteja, donde se han registrado aumentos del 50%, concretamente para la variedad Águeda (Rodríguez, comunicación personal) Ensayos con otras leguminosas, como es el caso del guisante proteaginoso (*Pisum sativum* L.) demuestran que esta estrategia repercute positivamente en el rendimiento. Así, la combinación de adelanto de fecha de siembra con la elección de variedades adaptadas a dicho cambio se traduce en una media de duplicación del rendimiento cuando se comparan siembras primaverales utilizando variedades de primavera (Caminero 2002).

En el párrafo anterior se insinúa que ese adelanto en la fecha de siembra debe venir acompañado con la elección de cultivares adaptados a ello. Así, se debe readaptar la fenología al nuevo ciclo de cultivo, especialmente en lo relativo al periodo de floración, para evitar los estreses producidos por las heladas tardías primaverales (Muehlbauer 2004, Caminero 2002).

Asimismo, no se debe olvidar el aumento del riesgo de la incidencia de algunas enfermedades fúngicas y bacterianas (Davidson y Kimber 2007) que pueden llegar a ser potencialmente devastadoras si se dan las condiciones óptimas para su desarrollo, como por ejemplo la rabia o ascoquitosis (*Ascochyta lentis* f. sp. *lentis*) y la marchitez vascular (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*). (Muehlbauer y col. 2006).

Otro aspecto a considerar es la competencia con las malas hierbas. Si bien las siembras invernales provocan un recubrimiento precoz de la parcela cuando se compara con las siembras primaverales, la lenteja no es buena competidora en general con gran parte de ellas (Rodríguez y col. 2003), pudiéndose llegar a pérdidas hasta del 75% de la cosecha cuando no se realiza un control adecuado (Nadal y col. 2004). Esto se debe a que la lenteja es una planta de porte bajo, lo que implica que no sólo las hierbas que pudieran emerger antes que ella, sino también las que emergen a la vez, o más tarde pero tienen un crecimiento más rápido, o un porte más alto, o mayor capacidad de



exploración por las raíces, son capaces de competir en suelo y agua con las lentejas, anulándolas por completo en ocasiones (Alonso y Cristóbal 1996).

Evidentemente, esta competencia ve aumentada su incidencia cuando no se dispone de herbicidas que sean capaces de controlar las hierbas durante todo el ciclo de cultivo, especialmente con las malas hierbas de hoja ancha, que son las que llegan a constituir un problema (Rodríguez y col. 2012), sobretodo en lenteja, una leguminosa muy sensible a las moléculas herbicidas disponibles hoy en día (Rodríguez, comunicación personal). Consultas realizadas en la zona de Montes Torozos (Valladolid) en 2008 a varios agricultores, reflejaron un rechazo de la siembra invernal ya que los herbicidas disponibles sólo eran capaces de controlar a las malas hierbas en aplicaciones de preemergencia en siembras primaverales, mientras que en siembras invernales esos herbicidas sólo son eficaces hasta el final del invierno, quedando desprotegida la planta el resto del ciclo, no habiendo buenas formulaciones autorizadas para su aplicación en postemergencia. Tal es la importancia de los herbicidas, que algunos autores como Erskine y Akem (1999) sugieren elegir la fecha de siembra considerando el balance entre el rendimiento potencial y el riesgo de pérdidas por enfermedades y malas hierbas, ya que a pesar de haber un aumento lineal en el potencial del rendimiento según se adelanta la fecha de siembra, es preferible retrasar la siembra invernal si no se dispone de herbicidas eficaces.

Pero uno de los aspectos más cruciales a considerar en la readaptación de los cultivos al adelanto de la fecha de siembra es lo que se conoce como tolerancia a la dureza invernal, aspecto del cual versará el siguiente capítulo. Como simple adelanto, es de reseñar, que en la Meseta Central de Turquía la utilización de variedades resistentes o tolerantes a frío sembradas en otoño ha aumentado espectacularmente la producción de lenteja, convirtiendo este país en uno de los mayores exportadores tras adoptar esta estrategia (Kahraman y col. 2004b).

En cualquier caso, la información aquí reflejada sobre precedentes generales y experiencias en otros países de la siembra invernal en lenteja, permite hacernos pensar que esa cifra del 26,8%, expuesta al final del apartado 1.2.5.- “algunas reflexiones: aún así...¿puede ser interesante su cultivo?” y que, recordemos, representa una

aproximación al incremento medio necesario en los rendimientos de la lenteja en Castilla y León para que esta sea realmente rentable y competitiva, no parece tan descabellada de alcanzar, pudiendo constituir la siembra invernal una estrategia adecuada para ello.

### **1.3.2.- INTERACCIÓN GENOTIPO X AMBIENTE**

Cuando se pretende definir qué tipo de planta es la más apta para unas determinadas características ambientales, como pueda ser la siembra invernal, hay que tener presente el tener una metodología adecuada para interpretar los posibles efectos de la interacción genotipo x ambiente en la expresión de los caracteres de interés, lo que permite diseñar las mejores estrategias de selección en la mejora de adaptación de esos caracteres (May y Kozub 1993).

Para abordar todo esto, una idea básica es la cita de Allard (1999): los efectos genotípicos en un determinado carácter, o respuesta de los genotipos a la exposición de diferentes ambientes, vienen determinados, más que por una expresión directa de los genes relacionados con ese carácter, por una sucesión de reacciones físico-químicas e interacciones iniciadas genéticamente pero modificadas por complejas reacciones gobernadas y modificadas por otros genes y las condiciones ambientales.

Allard no sólo pone de manifiesto la complejidad del funcionamiento de los genes en la expresión de los caracteres, con contribuciones cuantitativas, cualitativas o con influencia en interacciones epistáticas. También pone de manifiesto el papel que juega el ambiente como agente “enturbiador” en la expresión de esos genes, transformando a nuestros ojos los genotipos en fenotipos.

Se define ambiente como el conjunto de condiciones bajo las cuales, las plantas crecen, englobando localidades, años, prácticas de manejo, etc. A cada combinación en un determinado ensayo de los distintos factores localidad/año/practica se le considera como un ambiente por separado (González 2001).

La influencia del ambiente no tiene por qué ser la misma para diferentes genotipos, y tampoco la influencia de distintos ambientes tiene por qué ser igual en un genotipo dado: es lo que se conoce como interacción genotipo x ambiente, parte fundamental en la expresión genotípica a través de los ambientes que obliga a definir mejores estrategias en la mejora de adaptación a unos ambientes concretos, con el fin de o bien seleccionar el genotipo que mejor se comporte en todos los ambientes, es decir un genotipo plástico, o bien seleccionar el genotipo más adaptado para un ambiente determinado.

Así, la interacción genotipo x ambiente es la expresión genotípica diferencial a través de los ambientes (Fox y col. 1997), o dicho de otro modo, es la existencia de una respuesta diferencial en la expresión de determinados caracteres cuando varios genotipos son sometidos a diferentes ambientes (Caminero 2002).

En mejora genética de plantas, la interacción genotipo x ambiente más importante es la de tipo cualitativo, cambios en la clasificación de los genotipos a través de los ambientes (Baker 1988), ya que en las de tipo cuantitativo no hay cambios en las clasificaciones de los genotipos, sólo diferencias entre los distintos valores fenotípicos, así los genotipos con medias fenotípicas superiores pueden ser recomendados para todos los ambientes (Fox y col. 1997).

De esta forma, considerando la existencia de interacción cualitativa, y haciendo referencia al rendimiento, no solo se perseguirá definir genotipos altamente productivos, si no que se debe intentar garantizar que dichos genotipos presenten una buena estabilidad y patrones de adaptación ambiental a los ambientes objetivo en la expresión del rendimiento (Caminero 2002).

Muy relacionado con este concepto es la adaptabilidad general que definen Cubero y Flores (2003) como la capacidad de algunos genotipos para comportarse óptimamente en un amplio rango de ambientes, en oposición a adaptabilidad específica, la capacidad de comportarse óptimamente en algunos ambientes específicos.

## *Introducción*

En función de lo anterior se pueden definir patrones de adaptación, dividiendo los distintos ambientes en grupos homogéneos dentro de los cuales no se detecte interacción de tipo cualitativa. Análogamente se puede estudiar el efecto sobre la interacción de diversas características que definen los ambientes o de distintas informaciones genotípicas que definan a las variedades o genotipos, permitiendo una optimización de la expresión del rendimiento para cada condición particular (Romagosa y Fox 1993).

Una consideración importante en relación a la definición de un ideotipo adaptado a determinadas condiciones ambientales, es que el efecto sobre el rendimiento de uno o pocos caracteres suele ser pequeño (Loss y Siddique 1994), influyendo en su expresión un gran número de genes, cuantitativos y cualitativos, y sus interacciones, tanto epistásicas como ambientales (Pérez de la Vega y col. 2011). Por consiguiente, para definir correctamente un ideotipo, se debería considerar el mayor número posible de caracteres que puedan influir en la expresión del rendimiento, incluyendo en los estudios orientados a la definición del ideotipo variabilidad genética suficiente que permita detectar la posible influencia de su expresión en el carácter rendimiento (Acevedo y Ceccarelli, 1989).

Para ayudar a definir el ideotipo correcto, hay que considerar los caracteres o genes que puedan influir en la expresión del rendimiento, así como desglosar la interacción genotipo x ambiente para identificar qué variables ambientales son las que más interactúan con los genes. Esto es lo que se pretende hacer este trabajo, centrado la adaptación de la lenteja en función de elección de la fecha de siembra, invernal o primaveral, de cara a la mejora del rendimiento.

### **1.3.3.- LA DUREZA INVERNAL Y EL FRÍO**

#### **1.3.3.1.- ¿QUÉ ES LA DUREZA INVERNAL?**

Si bien, en función de las publicaciones citadas hasta el momento, y de otras muchas no incluidas, se intuye, y en muchos casos se ha demostrado, el gran potencial

en el incremento de los rendimientos que puede suponer un adelanto en la fecha de siembra, la cuestión realmente no es tan sencilla.

Para conseguirlo se debe ser consciente de varias consideraciones. Así, el hecho de adelantar la fecha de siembra va a someter al cultivo a un nuevo ambiente en el cual las plantas han de desarrollarse. Y para adaptarse al nuevo ambiente las variedades deberán presentar ciertos umbrales de lo que la literatura anglosajona cita como “winter hardiness”, y que podríamos traducir como “tolerancia a la dureza invernal” o “tolerancia al invierno” (Caminero 2002).

La dureza invernal comprende un conjunto de factores ambientales como son las bajas temperaturas, las heladas tanto invernales como primaverales, encharcamientos, ciclos de congelación y descongelación, cobertura de hielo e incidencia de enfermedades (Steponkus 1978, Murray y col. 1988, Kahraman 2004b); donde la duración, intensidad y frecuencia de cada factor así como la secuencia de los mismos son de gran importancia. Además, factores culturales, como la fecha de siembra, tipo de laboreo, fertilización, densidad y marco de siembra, profundidad de siembra, o la situación y tipo de terreno también afectan e interactúan con esas tolerancias a los distintos factores enunciados, y en consecuencia afectan a la adaptación invernal (Kusmenoglu 1995). De hecho, la tolerancia al invierno puede considerarse como específica de cada región, pudiendo existir variedades consideradas como muy tolerantes en determinados lugares y como poco tolerantes en otros (Murray y Swensen 1991).

De todos los factores enunciados, en el caso de la lenteja la tolerancia a las heladas constituye uno de los principales componentes a considerar en siembras tempranas en ambientes mediterráneos (Kahraman 2004a).

### **1.3.3.2.-EFECTOS GENERALES DEL FRÍO EN LAS PLANTAS**

Muy en general, en primer lugar conviene distinguir entre temperaturas frías (chilling temperatures) y temperaturas de helada (freezing temperatures). Las

## *Introducción*

temperaturas frías, son siempre positivas y están entre 0 y, 10 ó 15 °C, según autores. Las temperaturas de helada son aquellas menores de 0 °C (Sharma y col. 2005).

Referente a las temperaturas frías, la membrana plasmática es la primera y principal estructura celular afectada al sufrir modificaciones tanto cualitativas como cuantitativas debido a este tipo de estrés. Cambios en la estabilidad de las estructuras proteicas y en su flexibilidad son debidos a las alteraciones en la composición proteica y lipídica. Esto conduce a la alteración de los procesos de membrana como por ejemplo la apertura de canales iónicos o la transferencia de electrones (Sharma y col. 2005).

Las bajas temperaturas producen directamente una disminución en la cinética de las reacciones metabólicas, cambios en la conformación de las proteínas, desestabilización de complejos proteicos (Siddique and Caviocchioli 2006) y un aumento y acumulación de especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species, ROS), moléculas formadas de forma natural, como subproducto del metabolismo del oxígeno, jugando un importante papel en la señalización celular. Sin embargo, bajo condiciones de estrés ambiental, sus niveles pueden aumentar hasta niveles que pueden causar daños y ser perjudiciales para la estabilidad de las membranas y la fotosíntesis, y la despolimerización del citoesqueleto.

A nivel genético, el frío produce una estabilización de las estructuras secundarias de ARN afectando a la expresión génica (Ruelland y col. 2009).

En cuanto a la sintomatología en las plantas, los daños típicos por frío se asocian a lesiones superficiales, apariencia de manchas acuosas en los tejidos, pérdida de agua, desecación, decoloración interna, ruptura del tejido, aceleración de la senescencia, producción de etileno y un decaimiento más rápido debido a la pérdida de los metabolitos (Sharma y col. 2005).

Por otra parte, cuando hablamos de efectos de las temperaturas de helada, los sistemas de membrana de la célula son los primeros en lesionarse por congelación. Además, está bien establecido que los daños producidos en las membranas inducidos

por la congelación se deben principalmente a la deshidratación severa asociada (Levitt 1980, Steponkus 1984).

A medida que las temperaturas caen por debajo de 0°C se produce la congelación extracelular. Debido a la diferencia en el potencial químico creado por el crecimiento de cristales de hielo, el agua celular migra hacia ese hielo extracelular causando la deshidratación de la célula y su encogimiento (Jan y col. 2009). En última instancia, el hielo puede penetrar el simplasto, causando un deterioro de las estructuras intracelulares y la muerte de los tejidos (Ruelland y col. 2009).

Los síntomas que se observan tras los daños por heladas incluyen necrosis y marchitamientos de la parte aérea (Kahraman y col. 2004b), así como aborto de flores y vainas, y daños en las semillas (Maqbool y col. 2010).

Pese a que en este capítulo se ha pretendido establecer unas pinceladas referentes a los efectos del frío en las plantas, y a que se debe ser consciente que no es lo mismo el efecto del frío en función de si involucra o no congelación, en el contexto de esta tesis, y para facilitar y agilizar la redacción y lectura, en adelante cuando se hable de frío se referirá normalmente a la temperatura por debajo de cero grados centígrados, es decir asociada a heladas, salvo cuando sea preciso especificar el tipo de temperaturas en cuestión.

### **1.3.3.3.- LA TOLERANCIA AL FRÍO**

La aclimatación al frío es un proceso inducido por las bajas temperaturas que permite a las plantas desencadenar mecanismos eficientes necesarios para incrementar su tolerancia al frío, lo cual determina su capacidad para sobrevivir durante el invierno. Durante este periodo de exposición a bajas temperaturas se alteran determinadas funciones bioquímicas, metabólicas y fisiológicas. Estos cambios por bajas temperaturas están regulados mayoritariamente a nivel de expresión génica (Puhakainen 2004).

## *Introducción*

En condiciones naturales la aclimatación al frío ocurre durante el otoño cuando las temperaturas están aún por encima del punto de congelación. La máxima tolerancia a la congelación es mantenida durante el invierno y se pierde en primavera al subir las temperaturas. En general, esta tolerancia a la congelación es un carácter multigénico complejo que requiere una capacidad genética programada e integrada para activar los mecanismos pertinentes necesarios para soportar las duras condiciones del invierno. (Ouellet 2007).

En cuanto a las características generales de las plantas tolerantes a frío, las especies adaptadas por selección natural a ambientes fríos han adquirido características fisiológicas y morfológicas para mejorar la supervivencia. Suelen ser de corta estatura, tienen una superficie foliar pequeña y una relación raíz/follaje alta. Su hábito de crecimiento aprovecha cualquier cantidad de calor emitida por el suelo durante el día y minimiza el enfriamiento, ya que la temperatura es mantenida más eficazmente cerca del suelo. Tienden a tener un crecimiento lento, son plantas C3, y almacenan azúcares en los tejidos subterráneos. A la vez, poseen sistemas metabólicos eficaces que las permiten movilizar rápidamente sus reservas almacenadas (Guy 1999).

En cuanto a las estrategias de las plantas para enfrentarse a las heladas se pueden resumir en dos: evitar la congelación o tolerarla. En el primer caso, la congelación de los tejidos se impide o retrasa mediante el ajuste osmótico o por sobreenfriamiento: capacidad de los fluidos celulares para ser enfriados a temperaturas por debajo del punto de fusión, sin una inmediata congelación al controlar el número de partículas dentro de las células que puedan provocar la nucleación en la formación de cristales de hielo así como su crecimiento (Ruelland y col. 2009). El segundo caso, es la capacidad de la planta de soportar la formación de hielo, tanto extracelular, evitando la deshidratación de la célula, como intracelular, a través de mecanismos de estabilidad de membrana (Caminero 2002).

Actualmente se han identificado reguladores primarios y secundarios responsables de la modulación de la aclimatación al frío, pero aún no se han identificado algunas de las proteínas y procesos implicados en la percepción de los cambios de temperatura y en el inicio de la aclimatación. Además la modulación del



metabolismo celular y la composición del transcriptoma y proteoma, resultado de la aclimatación, son incluso más complejas debido a la presencia de tres genomas diferentes dentro de la célula: núcleo, cloroplasto y mitocondria (Ruelland y col. 2009).

#### **1.3.3.4.- LA GENÉTICA DE LA TOLERANCIA AL FRÍO**

El estudio de la genética de la tolerancia a la dureza invernal es complejo, debido por un lado a que es afectada por numerosos factores ambientales, ya citados anteriormente, y por otro lado debido a la inconsistencia de los ensayos de campo por la impredecible severidad y frecuencia de las bajas temperaturas (Muehlbauer 2004). Unas condiciones que permitan establecer diferencias para permitir una selección adecuada en condiciones de campo en cuanto a tolerancia a la dureza invernal se pueden dar cada 8-10 años (Lewitt 1980). Otra complicación adicional es la existencia de fuertes interacciones genotipo x ambiente.

En general, para la mayoría de los cultivos, es un carácter complejo cuantitativo con baja heredabilidad (Lewitt 1980). Así, en guisante (*Pisum sativum* L.), según distintos autores, está controlada por genes dominantes (Cousin y col. 1985), genes aditivos (Auld y col. 1983) y por hasta tres ó cuatro genes (Liesefeld y col. 1985). Más tarde, Lejeune-Hénaut y col. (2008) confirmaron una herencia oligogénica para la tolerancia a las heladas en guisante. En garbanzo (*Cicer arietinum* L.) está controlada por al menos cinco genes (Malhotra y Singh 1990), siendo dominantes los alelos tolerantes y recesivos los susceptibles. En trigo (*Triticum aestivum* L.) la tolerancia a la dureza invernal también es un carácter cuantitativo cuyo control genético es generalmente complejo (Cullis 1991). En cambio, hay casos excepcionales, como el té (*Camellia sinensis* L. O. Kuntze) o las rosas (*Rosa* sp.) donde parecen estar implicados sólo unos pocos genes (Eujayl y col. 1999).

En el caso de la lenteja, la heredabilidad de la tolerancia al invierno, evaluada en función del porcentaje de supervivencia en condiciones reales de campo, ha sido estimada entre 15,9 y 90,7% en función de la campaña, localidad y población (Kahraman y col. 2004a), estando en consonancia, en general, con lo publicado por Ali y Johnson (2000), que obtuvieron valores entre 32 y 71% bajo condiciones de campo, y

## *Introducción*

valores del 100% para condiciones de ambiente controlado para el carácter tolerancia a heladas.

Kahraman y col. (2004b) en un estudio sobre mapeo de QTLs (Quantitative Trait Loci) para tolerancia a la dureza invernal en lenteja, evaluando la supervivencia invernal y los daños por helada, determinaron que es un rasgo multigénico influido por los efectos acumulativos del estrés invernal. Se identificaron un total de siete QTLs, de los cuales uno de ellos, situado en el grupo de ligamiento (en adelante LG) 4, fue común a todos los ambientes ensayados, mientras que otros fueron específicos de la localidad e incluso del año. El LG1 también fue importante para la tolerancia al invierno en lenteja al presentar QTLs asociados a daños y supervivencia invernales (Muehlbauer 2004).

En otros ensayos con lenteja, la tolerancia a las heladas evaluada en ambiente controlado se ha descrito como regulada por genes aditivos (Ali y Johnson 2000), o ha presentado una herencia con un patrón complejo producido por unos pocos genes mayores (Barrios y col. 2006).

Es una observación común que las plantas herbáceas resistentes al invierno muestran un hábito de crecimiento en forma de roseta cuando son sometidas a temperaturas de aclimatación y esto sostiene los efectos pleiotrópicos sobre hábito de crecimiento y bajas temperaturas atribuidos a genes de desarrollo (Lejeune-Hénaut 2008). Así, por ejemplo en guisante (*Pisum sativum* L.) se ha observado que la formación de la roseta está íntimamente asociada a la tolerancia a la dureza invernal siendo un requisito esencial de la misma (Markarian y Andersen 1966).

Otros caracteres importantes para la adaptación al invierno son la vernalización y fotoperiodo como factores determinantes del inicio de la floración. En trigo (*Triticum aestivum* L.) se han localizado QTLs que controlan la vernalización y el fotoperiodo y que parecen regular también la tolerancia al frío (Mahfoozi y col. 2001), mientras que en colza (*Brassica napus* L.) los QTLs que controlan la vernalización y la tolerancia a las heladas se mapearon en la misma región genómica (Teutonico y col. 1995). Trabajos realizados en guisante (*Pisum sativum* L.), enumeran cuatro genes sensibles a la temperatura y fotoperiodo implicados en el inicio de la floración (Alcalde y col. 2000),

donde uno de ellos, el gen *Hr*, responsable del retraso de la floración, está colocalizado con un QTL principal de tolerancia a heladas invernales, ambos en el LG3 (Lejeune-Hénaut y col. 2008). En lenteja, el fotoperiodo y la vernalización controlan independientemente la respuesta a la floración (Summerfield y col. 1985), pero no se sabe si ambos procesos influyen en el desarrollo de la tolerancia al invierno (Kahraman y col. 2004b).

### **1.3.3.5.- METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA A LA DUREZA INVERNAL Y TOLERANCIA A LAS HELADAS**

La evaluación de la tolerancia a la dureza invernal, dada su compleja naturaleza y el alto número de factores por los que está influenciada, se ha realizado mediante ensayos de campo mediante la evaluación de la supervivencia invernal, ya que es el único método que permite estimar en conjunto todos esos factores.

Sin embargo, dada la variabilidad de las condiciones climáticas de cada localidad y campaña, es obligado usar grandes poblaciones en distintas localidades a lo largo de varias campañas para una correcta evaluación de este carácter. La frecuencia de condiciones invernales requeridas para observar segregación en cuanto a la supervivencia invernal es de 8-10 años (Lewitt 1980, Ali y col. 1999). Esto provoca una gran inversión en tiempo y dinero siempre sujeta a la incertidumbre de las condiciones ambientales. Además cuando se produce mortandad invernal en ensayos experimentales a menudo es irregular, y conduce a un alto error experimental (Fowler y Gusta 1979).

Por todo ello, y considerando la tolerancia a las heladas como uno de los factores más importantes de la dureza invernal, se han desarrollado métodos de laboratorio ágiles y eficientes para predecir la tolerancia a las heladas y complementar a los ensayos de campo.

Las pruebas de heladas en cámara de ambiente controlado son rápidas, permiten un control continuo de la temperatura, luz y humedad relativa, además de realizar las réplicas necesarias, pudiendo considerarse como un método de medida indirecta de la dureza invernal. Sin embargo las asociaciones entre tolerancia al invierno y tolerancia a

## *Introducción*

las heladas no son estables y varían entre experimentos, quizás por el diseño experimental y las condiciones artificiales. Por lo tanto, la evaluación final para tolerancia al invierno debe ser hecha en campo (Kahraman y col. 2004a).

Prieur y Cousin (1978) definen para guisante un método de evaluación para tolerancia a heladas en el cual las plantas deben pasar, previo a la exposición a la helada en sí, por un proceso de aclimatación de 2-3 semanas, y que tras la helada la temperatura debe subir gradualmente. Swensen (1980) estableció que tras la helada debe pasar al menos un periodo de tres semanas para garantizar una buena expresión de los daños. Ensayos posteriores, ya en lenteja, establecieron una duración óptima de tres semanas como periodo de aclimatación (Caminero 2004), mientras que Ali y col. (1999) establecieron una duración de seis semanas. Ambos autores demuestran que el proceso de aclimatación es una condición necesaria para que la lenteja sea capaz de tolerar las temperaturas bajo cero, al comportarse todos los genotipos testados como susceptibles en ausencia de dicho proceso.

Las variables que definen el programa de heladas tras el periodo de aclimatación son el ritmo de descenso de las temperaturas, la temperatura del tratamiento de helada que permita obtener resultados concluyentes y la duración del tratamiento de helada.

El ritmo de descenso de las temperaturas es una variable importante en las pruebas de heladas en cámara de ambiente controlado, ya que se deben evitar descensos demasiado bruscos pues pueden provocar la nucleación o congelación intracelular (Èteve 1985). Así, define como un buen índice de descenso de temperatura el de 2°C/hora en guisante, y una hora como el tiempo de permanencia a la temperatura de helada requerida. En lenteja, Ali y col. (1999) establecieron una velocidad de descenso entre 2 y 3 °C/h y un tratamiento de -15°C durante tres horas, para detectar diferencias entre genotipos. Mientras que Caminero y col. (2004) establecieron -9°C también para lenteja, para la detección de diferencias entre genotipos, con un ritmo de descenso de temperatura de 1,5°C/hora, si bien Barrios y col. (2010) modificaron este método hasta alcanzar también temperaturas de -15°C, manteniendo el mismo ritmo de descenso de temperaturas.

Pese a que los distintos autores aquí enunciados definen ligeras diferencias en algunos de los parámetros relacionados con los programas de heladas aplicados, o encuentran resultados variables dependientes especialmente de los distintos genotipos empleados por los autores, todos ellos comparten en común la estructura general de los programas para la evaluación de la tolerancia a heladas: un primer periodo de aclimatación, seguido del periodo de heladas y una última fase de recuperación donde se manifiestan los daños producidos por helada.

#### **1.4.- BIOTECNOLOGÍA Y SUS APLICACIONES EN LENTEJA**

La lenteja es una planta autógama, diploide, con siete pares de cromosomas ( $2n = 14$ ). Tiene un tamaño de genoma relativamente grande, 4.063 Mbp (Arumuganathan y Earle 1991), siendo unas cuatro veces más grande que el de tomate y 10 veces mayor que el del arroz (Ford y col. 2007). Pertenece al género *Lens* Miller, donde entre las especies silvestres han ocurrido amplias reestructuraciones cromosómicas, afectando así al éxito de los cruzamientos intra e interespecíficos (Ladizinsky 1997).

En los últimos 20 años se ha publicado un número relativamente alto de mapas genéticos de *Lens* sp. (Tabla 6) empleando fundamentalmente dos tipos de poblaciones de mapeo:  $F_2$  y líneas consanguíneas recombinantes (RILs). También se han utilizado diversos tipos de marcadores, desde morfológicos hasta microsatélites. El primer mapa genético intraespecífico fue publicado por Rubeena y col. (2003) siendo el resto de mapas anteriores interespecíficos. En la Tabla 6 se muestra un resumen de los principales mapas de ligamiento previamente publicados en lenteja.

Como se aprecia en la Tabla 6, una de las limitaciones que parece haber tenido el esfuerzo relacionado con el mapeo genético en lenteja, en comparación con otros cultivos, es el poco peso que tienen algunos marcadores basados en la PCR, locus-específicos y codominantes, como pueden ser los EST (Expressed Sequence Tag), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) o SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Este tipo de marcadores permitiría comparar los distintos mapas publicados (Muehlbauer y col. 2006), tarea que por el momento sólo se puede hacer con los microsatélites (SSR, Simple Sequence Repeats), cuyo desarrollo en lenteja y

## Introducción

comparación entre su ubicación en los distintos mapas obtenidos ( Durán y col. 2004, Hamwieh y col. 2005, Hamwieh y col. 2009, Saha y col. 2010a) constituye un primer paso hacia el mapa consenso de lenteja (Tabla 7)

TABLA 6: Mapas de ligamiento de *Lens* Miller publicados.

Tipo de población <sup>a</sup>	Tamaño de población <sup>b</sup>	Nº de marcadores	Tipo de marcadores	Longitud (cM)	Referencia
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	94	5	Aloenzimas y morfológicos	2 LGs	Zamir y Ladizinsky (1984)
(L. c. ssp. c. x L. e.) F <sub>2</sub>	107	18	Isoenzimas, morfológicos y translocación	258,0	Tadmor y col. (1987)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	66	34	Morfológicos, isoenzimas y RFLP	333,0	Havey y Muehlbauer (1989)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	n.i.	14	Aloenzimas y morfológicos	6 LGs	Muehlbauer y col. (1989)
(L. e. x L. c. ssp. c.) F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub>	100	64	Morfológicos, isoenzimas y RFLP	560,0	Weeden y col. (1992)
<i>L. c. ssp. c. x (L. c. ssp. o. x L. c. ssp. od., x L. n. x L. e.)</i>	n.i.	76	Morfológicos, isoenzimas, RFLP y proteína de semilla	10 LGs	Tahir y Muehlbauer (1993)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.)	n.i.	18	Isoenzimas y morfológicos	4 LGs	Vaillancourt y Slinkard (1993)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	40	33	RAPD, RFLP, morfológicos y oligonucleótidos	206,0	Eujayl y col. (1997)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) RIL	86	177	RAPD, AFLP, RFLP y morfológicos	1.073,0	Eujayl y col. (1998)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) F <sub>2</sub>	150	114	RAPD, ISSR y RGA	784,1	Rubeena y col. (2003)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	113	161	RAPD, AFLP, ISSR, SSR y morfológicos	2.172,4	Durán y col. (2004)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	106	130	RAPD, ISSR, AFLP y morfológicos	1.192,0	Kahraman y col. (2004b)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) RIL	86	283	SSR, RAPD, AFLP, RFLP y morfológicos	715,0	Hamwieh y col. (2005)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	94	97	ITAP y SSR	928,4	Phan y col. (2006)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	113	158	RAPD, AFLP, ISSR, SSR y morfológicos	2.172,4	Fratini y col. (2007)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	108	271	RAPD, SSR y AFLP	1.868,0	Tullu y col. (2008)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	94	166	ISSR, AFLP, RAPD y morfológicos	1.396,3	Tanyolac y col. (2010)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	206	139	SSR, RAPD, SRAP y morfológicos	1.565,2	Saha (2010)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	113	190	RAPD, AFLP, ISSR, SSR, CAP, SRAP y morfológicos	2.243,4	de la Puente (2013)

<sup>a</sup> Especies = *L. c. ssp. c.*=*Lens culinaris* ssp. *culinaris*, *L. c. ssp. O.*=*Lens culinaris* ssp. *orientalis*, *L. e.*=*Lens erviodes*, *L. n.*=*Lens nigricans*, *L. c. ssp. od.*=*Lens culinaris* ssp. *odemensis*

<sup>b</sup> n.i.= no indicado.

Fuente: elaboración propia a partir de Ford y col. (2007) más actualizaciones.

TABLA 7: Correspondencia entre microsatélites empleados por diferentes autores en mapas genéticos de *Lens Miller*.

SSR	Hamwiesh 2005	Phan 2007	Tullu 2008	Saha 2010
SSR13B	LG 1	-	-	-
SSR80	LG 1	-	-	-
SSR302A	LG 1	LG 4	LG 1	-
SSR204	LG 1	LG 4	-	LG 1 y LG 8
SSR309-2	LG 1	-	-	-
SSR13A	LG 1	-	LG 1	-
SSR336	LG 1	-	-	-
SSR317-2	LG 1	LG 4	-	-
SSR317-1	LG 1	LG 4	-	-
SSR199A	LG 1	-	LG 1	-
SSR199C	LG 1	-	LG 1	-
SSR167	LG 1	-	-	-
SSR107	LG 2	LG 2	-	-
SSR215A	LG 2	LG 2	-	-
SSR184	LG 2	LG 2	LG 2	-
SSR130	LG 2	-	-	-
SSR33	LG 3	LG 1	-	-
SSR48	LG 3	LG 1	LG 7	LG 2
SSR215B	LG 3	LG 2	-	-
SSR199B	LG 3	-	LG 1	-
SSR233B	LG 4	LG 4	LG 2	-
SSR302B	LG 4	LG 4	LG 1	-
SSR154D	LG 4	-	-	-
SSR154A	LG 4	-	-	-
SSR323	LG 5	LG 3	LG 1	-
SSR154C	LG 5	-	-	-
SSR259-2B	LG 6	-	-	-
SSR19	LG 6	-	-	-
SSR359-2A	LG 6	-	-	-
SSR212	LG 6	LG 6	-	-
SSR156	LG 7	LG V	-	-
SSR119	LG 8	LG 3	-	-
SSR113	LG 8	-	LG 6	-
SSR213	LG 8	-	-	-
SSR96	LG 8	-	-	-
SSR233D	LG 8	LG 4	LG 2	-
SSR233C	LG 9	LG 4	LG 2	-
SSR233A	LG 14	LG 4	LG 2	-

Fuente elaboración propia.

TABLA 8: Caracteres morfológicos mapeados en diferentes grupos de ligamiento en el genoma de *Lens* Miller.

Cruzamiento	Carácter – Grupo de Ligamiento							Referencia
	<i>Pi</i>	<i>Gh</i>	<i>Yc</i>	<i>Gs</i>	<i>Scp</i>	<i>Gcg</i>	<i>W</i>	
(L. e. x L. c. ssp. c) F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub>	3	-	-	1	7	-	-	Weeden y col. (1992)
<i>L. c. ssp. c. x (L. c. ssp. o. x L. c. ssp. od., x L. n. x L. e.)</i>	1	1	3	4	-	-	-	Tahir y col. (1993)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) RIL	2	-	-	-	3	-	3	Eujayl y col. (1998)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. o.) F <sub>2</sub>	n. a.	-	2	4	1	5	-	Durán y col. (2004)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	-	-	11	-	1	-	-	Tanyolac y col. (2010)
(L. c. ssp. c. x L. c. ssp. c.) RIL	-	9-	8	-	-	-	-	Saha y col. (2010b)

*Pi*: indehiscencia de la vaina, *Gh*: hábito de crecimiento, *Yc*: color del cotiledón, *Gs*: color del epicotilo, *Scp*: manchado de la cubierta de la semilla, *W*: color de la flor, n. a.: no asignado.

Fuente: elaboración propia a partir de Sonnante y col. (2009) y Ford y col. (2007).

Relacionado con caracteres que pudieran derivar marcadores morfológicos, en lenteja se han descrito un total de 46 caracteres de herencia monogénica en diferentes estudios, pero sólo 28 se han incluido en trabajos de ligamiento y sólo 22 han sido mapeados (Pérez de la Vega y col. 2011), de esos 22 caracteres, siete han sido mapeados en distintos estudios, permitiendo relacionar los grupos de ligamiento de los distintos mapas genéticos realizados (Tabla 8). En la Tabla 9 se resumen los principales caracteres morfológicos y su modo de herencia.

Estudios de ligamiento han encontrado que genes dominantes y monogénicos para altura de la planta, color de las hojas, pubescencia de la planta y número de folíolos por hoja, están ligados y separados a 21,1, 28,9 y 17,5 cM entre ellos. Asimismo, genes de herencia simple dominante que codifican para pigmentación del tallo, hoja y vaina, y hábito de crecimiento erecto, están ligados, en este orden citado, con distancia de 12,3, 25,5 y 20,8 cM entre ellos, respectivamente (Kumar y col. 2005a, b).



TABLA 9: Principales caracteres morfológicos en lenteja.

Carácter	Abreviatura de los genes	Tipo de herencia	Referencia
Altura de la planta	<i>Ph</i>	cuantitativo	Tahir y col. (1994)
Anchura del foliolo	<i>Blf</i>	mendeliana	Kumar y col. (2004)
Color de la cubierta de la semilla	<i>Ggc, Tgc</i>	mendeliana	Vandenberg y Slinkard (1990)
Color de la flor	<i>V, P</i>	mendeliana	Lal y Srivastava (1975)
Color de la hoja	<i>Gl</i>	mendeliana	Kumar y col. (2005b)
Color del cotiledón	<i>Yc, B,Dg</i>	-	Emami y Sharma (1996) Sharma y Emani (2002)
Estampado de la cubierta de la semilla	<i>Scp, Mot, Spt</i>	mendeliana	Vandenberg y Slinkard (1990) Emami y Sharma (1996)
Forma del foliolo	<i>Ol</i>	mendeliana	Kumar y col. (2005a)
Formación del zarcillo	<i>Tnl</i>	mendeliana	Vandenberg y Slinkard (1989)
Hábito de crecimiento	<i>Gh</i> <i>Ert</i> ( <i>semierecto o semipostrado</i> )	mendeliana, dominancia incompleta Recesivo	Ladizinsky (1979) Emami y Sharma (1999)
Indehiscencia de la vaina	<i>Pi</i>	mendeliana	Ladizinsky (1979)
Nº de flores por pedúnculo	<i>Fn</i>	mendeliana	Gill y Malhotra (1980)
Nº de foliolos por hoja	<i>Hl</i>	mendeliana	Kumar y col. (2005b)
Pigmentación de la hoja	<i>Bl</i>	mendeliana	Emami y Sharma (1996)
Pigmentación de la vaina	<i>Grp, Pdp, Rdp</i>	mendeliana	Vandenberg y Slinkard (1989) Havey y Muehlbauer (1989) Emami y Sharma (1996)
Pigmentación del tallo	<i>Gs</i>	mendeliana	Ladizinsky (1979)
Pubescencia de la vaina	<i>Glp</i>	-	Vandenberg y Slinkard (1989)
Pubescencia de toda la planta	<i>Pep, Pub</i>	mendeliana	Sarker y col. (1999) Hoque y col. (2002)
Pubescencia del pedúnculo	<i>Pdp</i>	-	Emami y Sharma (1996)
Tamaño de la estípula	<i>Lst</i>	mendeliana	Kumar (2002)
Testa de la semilla negra	<i>Blsc, Blt</i>	mendeliana	Vaillancourt y Slinkard (1993) Emami y Sharma (2000)
Tiempo de floración	<i>Sn</i>	cuantitativa, gen mayor en combinación con un sistema poligénico	Sarker y col. (1999)

Fuente: elaboración propia a partir de Yadav y col. (2007), Sharma (2008) y Erskine y col. (2009).

La evidencia de macrosintenia entre lenteja y *Medicago truncatula*, la planta modelo por excelencia en leguminosas, fue descrita por Phan y col. (2007) basándose en

## *Introducción*

el hecho que 66 de los 71 marcadores basados en genes, previamente asignados en mapas genéticos y físicos de *M. truncatula*, se encontraban en regiones sinténicas de ambas especies. Estos mismos autores, mediante mapeo comparativo, observaron una relación directa y simple entre sus cromosomas, con una evidente homología completa entre sus grupos de ligamiento, así como moderadas reestructuraciones cromosómicas que podrían explicar la diferencia que hay entre el número de cromosomas de ambas leguminosas.

También se han realizado estudios de sintenia no sólo entre *Lens* sp. y *M. truncatula*, si no también con *Pisum* sp. y *Vicia faba*. Así, Weeden y col. (1992) identificaron ocho regiones sinténicas entre guisante y lenteja que constituían aproximadamente el 40 % del mapa genético de lenteja entonces conocido. Elwood y col. (2008) en un estudio de macrosintenia entre habas y lentejas observaron que comparten reordenamientos comunes en relación con *M. truncatula*. También encontraron que marcadores originalmente diseñados a partir de genes en el mismo BAC (Bacterial Artificial Chromosome) de *M. truncatula* se agrupaban en las áreas sinténicas correspondientes en lentejas y habas.

# **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**



## **2.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

Si se realizase una encuesta acerca de la percepción que se tiene de la lenteja, no cabe duda que la gente diría que es un alimento bien conocido entre la población, que es saludable por su alto contenido en hierro y que goza de buena fama por estar incluido en la dieta mediterránea... “¡Y si son con chorizo, mejor!”, diría más de una persona.

Esta percepción en cuanto a sus bondades alimenticias y gastronómicas, sin duda positiva, aún mejora cuando se le añaden otras consideraciones relacionadas esta vez con sus ventajas y beneficios agronómicos en cuanto a su pertenencia a las leguminosas, como su interés en las rotaciones cerealistas por el ahorro teórico de costes en las partidas vinculadas a fertilizantes y fitosanitarios, o su concepción de cultivo mejorante y no esquilante como la gran mayoría, o los resultados que informan de incrementos en el rendimiento del cereal posterior.

Y si a esa inmejorable percepción como cultivo se le une un escenario caracterizado por la existencia de un claro nicho de mercado motivado por el consumo de este tipo de legumbres, actualmente cubierto por las importaciones, sin duda la imagen para el profano sería la de la lenteja como un cultivo básico para nuestros agricultores y omnipresente en nuestros campos. Imagen que sería aún más acusada en regiones que, como en la nuestra, como Castilla y León, lentejas y garbanzos se asocian y forman parte no sólo de nuestra agricultura más tradicional sino de nuestras propias raíces culturales.

En cambio, basta con dar un paseo por el campo para ver cuánta lenteja realmente se siembra y comprobar cuan alejada de la realidad es esa imagen anteriormente supuesta: Al igual que de otras leguminosas, resulta difícil o más bien imposible, encontrar por el campo de Castilla y León tierras cultivadas de lenteja.

Esto refleja la triste realidad de un cultivo tradicional antaño común por doquier que hoy en día está limitado a unas zonas relictas que gozan de marcas de protección, mientras que en otras zonas de la región ya lleva muchos años desaparecida por

## *Justificación y Objetivos*

completo. A esta situación de abandono del cultivo por parte del agricultor se ha llegado por varias causas, destacando el bajo y errático rendimiento que producen, lo que limita sobremanera su rentabilidad y competitividad en comparación con otros cultivos. Si además se añade la aparición de una fuerte competencia del mercado exterior a principios de los 90 y una política agraria comunitaria desfavorable para este cultivo, entre otras causas, es hasta normal que se haya llegado a esta realidad. La realidad de un alimento que solo tiene “fachada” de cara al público general, ya que sus pilares llevan tiempo derruidos.

Las posibles soluciones que pueden cambiar la situación actual de la lenteja pasan indudablemente por el cumplimiento de los parámetros de rentabilidad de los que hoy adolecen de cara al agricultor, básicamente resumidos en la obtención de rendimientos más competitivos que aumenten el atractivo por este cultivo. Y realmente, la obtención de incrementos en esos rendimientos para tornarlos en rentables, en función de lo que se ha intentado plasmar y explicar en el capítulo de la introducción, si bien puede resultar tarea ardua, no parece imposible cuando se consideran teóricamente estrategias concebidas tanto desde el punto de vista de la agronomía y la genética.

Así, en la presente tesis se busca, por un lado, desde el punto de vista de la agronomía, indagar acerca de la adaptación de la lenteja a la siembra invernal frente a la siembra primaveral, como estrategia de cara a aumentar el rendimiento final. Y por otro lado, desde el punto de vista de la genética, se busca explorar acerca de los caracteres y genes que regulan tanto la adaptación a la siembra invernal, como el rendimiento. El fin último es proporcionar al mejorador información sobre qué caracteres hay que tener en cuenta en la mejora genética de la lenteja y qué variables ambientales son las que más influyen en la expresión del rendimiento en lenteja, como apoyo a la concepción en su cabeza del ideotipo a considerar que mejor se adapte a los ambientes estudiados.

Se pretende pues, intentar dar un pequeño empujón ante la desesperante situación de la lenteja. No hay que olvidar que es un alimento saludable, bien valorado y que por su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, entra dentro del marco de la agricultura sostenible. Además, es un producto demandado por nuestra sociedad (de hecho, España importa muchas toneladas de lentejas), por lo que su producción rentable

puede resultar una oportunidad para que nuestros agricultores cubran ese nicho de mercado.

Por todo esto, y antes de enumerar de forma quizá más fría los objetivos concretos que se han considerado en esta tesis, realmente ésta se inició porque, al menos a nuestro juicio, merece la pena el intentar evitar la pérdida de este cultivo. Así, nuestro objetivo real global es, simplemente, contribuir a ello aportando un pequeño granito de arena orientado a explorar acerca del posible interés real de investigar la lenteja en Castilla y León, en lo referente a estimar si los esfuerzos relacionados puedan realmente suponer que el cultivo se transforme en rentable y competitivo.

Los objetivos más específicos de esta tesis son:

- Estudiar el interés que la siembra invernal puede representar en Castilla y León en cuanto a estrategia orientada a la mejora de la rentabilidad de la lenteja mediante el aumento y estabilización del rendimiento.
- Identificar los condicionantes que en este adelanto de la fecha de siembra puedan influir en la adaptación del cultivo en cuanto a expresión del rendimiento y que deban ser consideradas por el mejorador en sus procesos de mejora y selección.
- Contribuir a la detección de caracteres involucrados en la adaptación y expresión del rendimiento y, en consecuencia, a la definición del ideotipo adecuado para la realización de siembra invernal bajo las condiciones ambientales de la meseta castellana y leonesa.
- Contribuir en la concepción de herramientas útiles para el mejorador en cuanto a los esfuerzos relacionados con el mapeo genético de la lenteja, y localización o anclaje de genes y QTLs involucrados en la expresión de caracteres relacionados con la productividad y la adaptación a la siembra invernal.

## *Justificación y Objetivos*



# **MATERIALES Y MÉTODOS**



### **3.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- MATERIAL VEGETAL**

El material vegetal está constituido por dos poblaciones de *Lens culinaris* subsp. *culinaris* Medik., segregantes ambas para tolerancia a la dureza invernal:

La población Precoz x WA8649041, formada por 87 líneas recombinantes consanguíneas (RIL) en F<sub>6:7</sub>, obtenida y cedida por el Dr. Fred J. Muehlbauer, Departamento de Cultivos y Ciencia del Suelo, Universidad del Estado de Washington, EE.UU. El parental WA8649041, proviene de una selección masal de poblaciones originarias de Turquía (Spaeth y Muehlbauer 1991) y está caracterizado por tener alta tolerancia a frío y ser de ciclo largo. El parental Precoz, o ILL4605, es un cultivar argentino (Riva 1975) de ciclo corto, alto rendimiento y es una conocida fuente de susceptibilidad al frío (Muehlbauer y col. 2004). Esta población es la que ha sido fundamentalmente estudiada, de la que se han obtenido la casi totalidad de los datos que han permitido realizar esta tesis.

La población BGE016365 x ILL1918, formada por 136 RILs en F<sub>6:7</sub>, obtenida por el equipo del Área de Genética de la Universidad de León. El parental BGE016365, es una variedad local tradicional originaria de Tefía, Las Palmas (Islas Canarias). El parental ILL1918, que es una variedad local recolectada en Austria.

Además de estas poblaciones, se han incluido 11 variedades comerciales como testigos en los ensayos: Águeda, Alcor, Aljama, Amaya, Ángela, Azagala, Candela, Guareña, Lyda, Magda y Paula. A ellas se ha de añadir un ecotipo sirio de semilla macrosperma, ILL4400, que ha sido incluido como testigo por su tolerancia al frío (Stoddard y col. 2006).

### **3.2.- ENSAYOS DE CAMPO**

#### **3.2.1.- DEFINICIÓN DE LOS AMBIENTES**

Los ensayos de campo se han llevado a cabo en un total de cinco combinaciones localidad x año (refiriéndonos con año realmente a campaña de cultivo), considerándose en cada una de ellas dos ambientes diferenciados por la fecha en la que se realizó la siembra, invernal y primaveral, consiguiendo un total de 10 ambientes. Las combinaciones localidad x año en las que se ha realizado el estudio han sido la Finca Zamadueñas (Valladolid), durante las campañas 2005/06, 2006/07 y 2007/08, y Peñaflor de Hornija (Valladolid) durante las campañas 2006/07 y 2007/08.

Sin embargo, en la campaña 2006/07, se detectaron durante la época de maduración ataques y daños producidos por topillo campesino (*Microtus arvalis* Pallas) en los ensayos de la localidad de Peñaflor de Hornija, afectando a la práctica totalidad de las microparcels. En consecuencia, para los análisis relativos a la presente tesis no se han considerado los datos producidos en los dos ambientes ensayados en esa localidad y campaña.

En consecuencia, el número de ambientes finalmente considerado en la presente tesis ha sido de ocho, producto de los dos tipos de siembra invernal y primaveral, en la Finca Zamadueñas en las tres campañas inicialmente indicadas y en Peñaflor de Hornija en la campaña 2007/2008.

##### **3.2.1.1.- LOCALIDADES**

Finca de Zamadueñas (Valladolid):

- Situación: longitud 4° 42' 29'' Oeste, latitud 41° 42' 09'' Norte y altitud de 695 m.
- Suelo: textura franco-limosa (32 % de arena, 50 % de limo y 18 % de arcilla), de pH neutro (7,4), muy bajo contenido en materia orgánica (1,3 %), no salino, y

con buena capacidad de cambio catiónico. Muy bajo contenido en caliza activa (despreciable) y carbonatos (1,7 %).

- Clima: según la clasificación de Emberger es de tipo Mediterráneo semiárido con tipo de invierno frío de heladas muy frecuentes. Según la misma clasificación la variedad quedaría definida como superior de forma invierno, al ser diciembre donde se concentra el máximo de precipitaciones. Según la clasificación de Koppen, el tipo de clima es templado-húmedo, cálido mesotermo y con estación seca en verano. El periodo medio de heladas va del 16 de noviembre al 23 de abril, con periodo máximo entre el 25 de septiembre y el 17 de mayo y el mínimo entre el 27 de noviembre y el 19 de marzo.

Peñaflor de Hornija (Valladolid):

- Situación: Longitud 4° 53' 43'' Oeste, latitud 41° 44' 35'' Norte y altitud de 837 m.
- Suelo: textura franco-arcillosa (28 % de arena, 35 % de limo y 40 % de arcilla), de pH neutro (7,8), bajo contenido en materia orgánica (1,5 %), no salino, y con buena capacidad de cambio catiónico. Bajo contenido en caliza activa y carbonatos (5,2 %).
- Clima: según la clasificación de Emberger es de tipo Mediterráneo semiárido con tipo de invierno frío de heladas muy frecuentes. Según la misma clasificación la variedad quedaría definida como superior de forma invierno, al ser diciembre donde se concentra el máximo de precipitaciones. Según la clasificación de Koppen, el tipo de clima es templado-húmedo, cálido mesotermo y con estación seca en verano. El periodo de heladas medio va del 10 de noviembre al 27 de abril, con periodo máximo entre el 20 de septiembre y el 21 de mayo y el mínimo entre el 17 de noviembre y el 15 de marzo.

**3.2.1.2.- CAMPAÑAS DE CULTIVO**

En la Tabla 10 se resumen los principales datos climáticos habidos durante las campañas de ensayos consideradas en la Finca Zamadueñas, incluyendo también información referente al año tipo, obtenido por los valores medios de una serie de 30

## Materiales y Métodos

años. En la Tabla 11 se aporta la misma información para la localidad de Peñaflor de Hornija para la campaña finalmente considerada y para el año tipo.

TABLA 10: Datos climáticos de las campañas 2005/06, 2006/07, 2007/08 y del año tipo en la finca de Zamadueñas, en Valladolid.

		Tmama	Tmema	Tmed	Tmemi	Tmimi	Días de Helada	Prec
<b>Octubre</b>	2005/06	26,50	18,96	13,40	9,18	4,20	0	108,40
	2006/07	26,57	20,42	14,11	8,43	3,29	1 (21/10)*	97,00
	2007/08	22,31	18,42	11,45	5,86	-0,52	3 (04/10)*	49,80
	Año tipo	25,77	18,84	12,91	6,99	-3,40	-	42,30
<b>Noviembre</b>	2005/06	17,20	11,12	6,40	3,29	-1,90	1 (25/11)*	49,80
	2006/07	20,03	14,70	9,87	5,94	-0,93	13	75,60
	2007/08	18,50	12,38	5,26	-0,32	-8,68	9	42,40
	Año tipo	19,53	12,48	7,68	2,88	-6,50	-	48,81
<b>Diciembre</b>	2005/06	13,30	8,17	3,58	0,42	-5,90	20	20,30
	2006/07	14,70	8,17	3,20	-0,69	-6,41	18	16,00
	2007/08	13,77	7,62	2,61	-1,22	-8,28	20	10,00
	Año tipo	14,15	8,39	4,69	1,00	-9,60	-	48,26
<b>Enero</b>	2005/06	10,60	5,86	2,42	0,08	-5,90	15	41,20
	2006/07	14,50	8,10	3,77	0,09	-4,81	18	21,00
	2007/08	13,29	9,51	4,95	1,33	-4,87	13	33,60
	Año tipo	13,55	8,15	4,16	0,17	-16,10	-	46,16
<b>Febrero</b>	2005/06	14,30	8,70	3,22	-0,49	-4,40	18	41,80
	2006/07	19,05	11,52	7,04	2,60	-1,80	9	38,20
	2007/08	17,17	13,45	6,87	1,58	-2,60	10	29,00
	Año tipo	18,89	11,01	5,93	0,87	-11,50	-	35,31
<b>Marzo</b>	2005/06	21,31	14,93	9,08	3,48	-3,41	4	30,00
	2006/07	18,78	13,44	6,85	0,77	-4,14	13	13,80
	2007/08	20,17	13,74	7,10	0,93	-5,13	9	8,60
	Año tipo	21,21	14,37	8,22	2,05	-10,20	-	25,98
<b>Abril</b>	2005/06	24,37	17,65	11,26	4,86	-1,13	1 (11/04)*	40,20
	2006/07	25,77	17,82	10,99	4,56	-3,06	4 (05/04)*	46,40
	2007/08	24,90	16,68	10,18	3,77	-0,86	3 (13/04)*	71,80
	Año tipo	23,89	16,18	10,11	4,07	-6,00	-	42,28

Tmama: temperatura máxima de máximas (para el año tipo es la media de máximas absolutas); Tmema: temperatura media de máximas; Tmed: temperatura media; Tmemi: temperatura media de mínimas; Tmimi: temperatura mínima de mínimas (para el Año tipo es la media de mínimas absolutas); Prec: precipitación media.

\*Las fechas entre paréntesis en el mes de abril se refieren a la última helada de la campaña, mientras que para el resto de meses se refiere a la primera helada de la campaña.

TABLA 10 (continuación).

		<b>Tmama</b>	<b>Tmema</b>	<b>Tmed</b>	<b>Tmeme</b>	<b>Tmimi</b>	<b>Días de helada</b>	<b>Prec</b>
<b>Mayo</b>	2005/06	32,03	23,53	15,76	7,74	1,61	0	10,60
	2006/07	27,10	20,11	13,42	7,00	1,54	0	124,80
	2007/08	26,31	18,65	12,75	7,80	0,01	0	140,00
	Año tipo	27,87	20,02	13,61	7,20	-1,70	-	51,76
<b>Junio</b>	2005/06	34,97	29,17	20,24	12,08	5,02	0	37,00
	2006/07	30,44	23,99	16,76	9,48	5,42	0	55,80
	2007/08	33,85	25,33	17,58	10,61	5,62	0	39,40
	Año tipo	32,99	25,34	17,97	10,60	2,60	-	35,45
<b>Julio</b>	2005/06	38,04	32,32	23,34	14,60	10,75	0	6,00
	2006/07	37,64	29,07	20,52	11,39	7,17	0	1,80
	2007/08	37,04	28,87	20,20	11,32	5,63	0	1,60
	Año tipo	36,58	30,08	21,74	13,41	3,20	-	16,93
<b>Agosto</b>	2005/06	34,25	27,66	19,42	11,69	6,35	0	21,80
	2006/07	37,51	27,59	19,29	11,29	4,42	0	17,40
	2007/08	36,31	29,20	20,11	11,27	6,43	0	0,40
	Año tipo	35,86	29,32	21,39	13,46	3,60	-	16,69

Tmama: temperatura máxima de máximas (para el año tipo es la media de máximas absolutas); Tmema: temperatura media de máximas; Tmed: temperatura media; Tmeme: temperatura media de mínimas; Tmimi: temperatura mínima de mínimas (para el Año tipo es la media de mínimas absolutas); Prec: precipitación media.

La campaña 2005-2006, en general, no destacó por ser una campaña extrema en cuanto a temperaturas o precipitaciones. Resaltaron las precipitaciones otoño-invernales del mes de octubre, mientras que en mayo fueron escasas. Durante la primera mitad de la campaña resalta la tardanza en el comienzo de las heladas respecto a las otras dos campañas y al final de la campaña las temperaturas fueron más elevadas de lo normal.

La campaña 2006-2007 se caracterizó por temperaturas suaves y lluvia escasa en invierno, seguido por una primavera de temperaturas más altas de lo normal y mucha lluvia en marzo abril y mayo, que propiciaron la aparición de grandes plagas y enfermedades.

La campaña 2007-2008 se caracterizó también por temperaturas frías al principio del invierno, con precipitaciones más escasas en invierno que en la anterior campaña, seguido por una primavera de temperaturas más altas de lo normal y mucha lluvia durante toda la estación que propició una campaña excelente en cuanto a rendimientos.

## Materiales y Métodos

En general, ninguna de las tres campañas se caracterizaron por tener inviernos con frecuentes heladas fuertes y temperaturas muy por debajo lo normal, es decir, los inviernos no fueron muy crudos. Las campaña 2006-2007 fue la campaña con el invierno más suave de las tres estudiadas.

TABLA 11: Datos climáticos de la campaña 2007-2008 y del año tipo en Peñaflor de Hornija (Valladolid).

		Tmama	Tmema	Tmed	Tmemi	Tmimi	Días de helada	Prec
<b>Octubre</b>	2007/08	21,90	17,86	12,67	6,44	1,70	2 (24/10)*	91,90
	Año tipo	25,00	17,80	13,10	7,00	-3,00	-	44,80
<b>Noviembre</b>	2007/08	18,90	12,28	6,65	0,38	-7,30	9	41,30
	Año tipo	18,90	11,80	7,60	2,90	-7,50	-	52,10
<b>Diciembre</b>	2007/08	12,90	7,87	3,54	-0,96	-6,90	22	5,70
	Año tipo	14,00	8,40	4,70	-0,30	-11,00	-	48,20
<b>Enero</b>	2007/08	13,30	9,53	5,46	1,00	-3,70	14	20,90
	Año tipo	13,00	7,50	3,60	-0,50	-12,00	-	43,10
<b>Febrero</b>	2007/08	15,90	12,62	7,77	2,47	-0,90	3	34,50
	Año tipo	16,50	10,20	5,60	0,20	-11,40	-	28,90
<b>Marzo</b>	2007/08	19,90	13,09	7,85	1,02	-4,90	9	5,40
	Año tipo	20,70	13,80	8,80	2,00	-9,80	-	25,80
<b>Abril</b>	2007/08	24,90	16,14	10,97	3,46	-1,70	1 (12/04)*	64,70
	Año tipo	22,40	15,10	10,40	3,30	-6,20	-	42,10
<b>Mayo</b>	2007/08	23,90	17,99	13,33	7,16	0,20	0	114,40
	Año tipo	27,30	19,00	14,20	6,30	-5,40	-	41,80
<b>Junio</b>	2007/08	32,90	24,24	18,43	10,05	4,40	0	32,90
	Año tipo	32,30	24,70	19,20	9,90	-0,50	-	23,70
<b>Julio</b>	2007/08	36,40	27,97	21,34	10,66	3,90	0	1,00
	Año tipo	35,40	28,70	22,50	12,20	2,40	-	18,50
<b>Agosto</b>	2007/08	34,90	28,19	21,55	11,10	5,20	0	16,40
	Año tipo	34,80	28,30	22,20	12,50	3,00	-	17,80

Tmama: temperatura máxima de máximas (para el Año tipo es la media de máximas absolutas); Tmema: temperatura media de máximas; Tmed: temperatura media; Tmemi: temperatura media de mínimas; Tmimi: temperatura mínima de mínimas (para el Año tipo es la media de mínimas absolutas); Prec: precipitación media.

Las fechas entre paréntesis en el mes de abril se refieren a la última helada de la campaña, mientras que para el resto de meses se refiere a la primera helada de la campaña.



### 3.2.1.3.- FECHAS DE SIEMBRA

TABLA 12: Relación de los ambientes ensayados, descripción y fecha en que se realizaron las siembras.

<b>Ambiente</b>	<b>Localidad</b>	<b>Fecha</b>	<b>Campaña</b>	<b>Fecha de siembra</b>
<b>ZI06</b>	Zamadueñas	Invernal	2005/06	22/11/05
<b>ZP06</b>	Zamadueñas	Primaveral	2005/06	29/01/06
<b>ZI07</b>	Zamadueñas	Invernal	2006/07	07/11/06
<b>ZP07</b>	Zamadueñas	Primaveral	2006/07	02/03/07
<b>PI07*</b>	Peñaflor de Hornija	Invernal	2006/07	31/10/06
<b>PP07*</b>	Peñaflor de Hornija	Primaveral	2006/07	06/03/07
<b>ZI08</b>	Zamadueñas	Invernal	2007/08	07/11/07
<b>ZP08</b>	Zamadueñas	Primaveral	2007/08	30/01/08
<b>PI08</b>	Peñaflor de Hornija	Invernal	2007/08	08/11/07
<b>PP08</b>	Peñaflor de Hornija	Primaveral	2007/08	07/02/08

ZI06: Zamadueñas Invierno 2005/2006, ZP06: Zamadueñas Primavera 2005/2006, ZI07: Zamadueñas Invierno 2006/2007, ZP07: Zamadueñas Primavera 2006/2007, PI07: Peñaflor Invierno 2006/2007, PP07: Peñaflor Primavera 2006/2007; ZI08: Zamadueñas Invierno 2007/2008, ZP08: Zamadueñas Primavera 2007/2008, PI08: Peñaflor Invierno 2007/2008, PP08: Peñaflor Primavera 2007/2008.

\* ambientes finalmente excluidos debido a la plaga de topillos.

Fueron seleccionadas dos fechas de siembra: siembra invernal y siembra primaveral. Conviene matizar que realmente la siembra invernal realizada es, en sentido estricto, una siembra otoñal, pues se ha realizado en la primera quincena del mes de noviembre, pero comúnmente es conocida como siembra invernal u otoño–invernal, por lo que en este trabajo se mencionará simplemente como siembra invernal. Asimismo, la siembra primaveral realizada técnicamente es una siembra invernal tardía, pues se efectúa normalmente en el mes de febrero, a la salida del invierno, pero normalmente se hace referencia a ella como siembra primaveral. Las fechas concretas en las que se han realizado las siembras en cada uno de los ambientes considerados aparecen reflejadas en la Tabla 12.

### **3.2.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL**

Dentro de cada ambiente definido la siembra se realizó siguiendo un diseño en tres bloques completos al azar.

La unidad experimental estaba constituida por un surco de dos metros de longitud, con 40 semillas por surco, separación entre semillas dentro del surco de cinco centímetros. La distancia entre surcos, o entre unidades experimentales, fue de 33 centímetros.

### **3.2.3.- PRÁCTICAS CULTURALES**

Las labores de cultivo realizadas durante el ensayo se basaron en las habituales de la zona, considerando ciertas variaciones debido al hecho de tratarse de microparcels.

El cultivo precedente en ambas localidades fue de cebada, para todas las campañas ensayadas.

Se realizó labor de alzado con arado de vertedera a una profundidad de 30 cm, con tempero en el suelo durante el mes de octubre. Tras el alzado, se dieron un par de pases cruzados de cultivador, y entre ellos se aplicó con abonadora de voleo la fertilización de sementera: 50 unidades de fertilizante de fósforo y 20 de potasio.

La siembra se realizó con una sembradora de precisión para parcelas experimentales, a cuatro botas separadas 33 cm. A continuación se pasó el rodillo y seguidamente se aplicó el herbicida de preemergencia (trifluralina 24% + linuron 12%) en una dosis de 2,5 l/ha.

Se realizó escarda manual, entre surcos y plantas, en todo momento que fue preciso para eliminar la competencia que las malas hierbas pudieran causar.

Cuando se apreció ataque de sitona (*Sitona* sp.) en los primeros estadios de crecimiento o ataque de pulgón durante el desarrollo del cultivo se aplicó tratamiento insecticida con materia activa Deltametrín 2,5% siguiendo las indicaciones del fabricante. Asimismo, desde el inicio de floración de las primeras parcelas se realizaron dos tratamientos contra gorgojo (*Bruchus* sp.) cada 10 días utilizando el mismo producto.

En lo referente a la recolección, cada unidad experimental fue cosechada a mano cuando se observó que presentaba una clara tonalidad amarillenta y las vainas estaban secas, de color marrón tostado. Se segaron antes de que las vainas comenzasen a abrir por el fenómeno de la dehiscencia. Por un lado, de cada unidad experimental se recogieron en una bolsa de papel cinco plantas al azar excluyendo las de los bordes, y por otro lado, se segó el resto de las plantas del surco que se guardaban en un saco de rafia. De esta forma que de cada o unidad experimental había una bolsa con cinco plantas (para la evaluación de alguno de los caracteres que se describen a continuación) y un saco con el resto de las plantas. Ambos tipos de muestras se almacenaron en un lugar soleado y aireado para completar el secado.

Una vez secas las muestras, se trillaron individualmente con trilladora mecánica para microparcels, procediendo después a la limpieza de restos de paja y tierra que pudiera haber.

### **3.2.4.- CARACTERIZACIÓN**

#### **3.2.4.1.- CARACTERES RELACIONADOS CON EL CRECIMIENTO INICIAL Y LA TOLERANCIA A LA DUREZA INVERNAL**

- Número de plantas nacidas (NAS): es el número de plantas presentes cuando la globalidad del ensayo presentaba estado entre dos y cuatro hojas.
- Número de plantas vivas (VIV): es el número de plantas vivas al final del periodo de desarrollo vegetativo.

## *Materiales y Métodos*

En función de estos datos se calcularon los siguientes parámetros:

- Porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas (PSUP2\_NAS) (%) =  $[VIV/(NAS)]*100$ . Es el número de plantas vivas al final del periodo de desarrollo vegetativo con respecto del número de plantas nacidas totales.
- Porcentaje de supervivencia respecto de las semillas sembradas (PSUP2\_SEM) (%) =  $(VIV/SEM)*100$ . Es el número de plantas vivas al final del periodo de desarrollo vegetativo con respecto del número de semillas sembradas.

### **3.2.4.2.- CARACTERES RELACIONADOS CON LA MORFOLOGÍA**

Los valores para todos los caracteres relacionados con la morfología que se presentan a continuación se calculan mediante la media aritmética calculada a partir de cinco plantas elegidas al azar dentro del surco excluyendo los bordes, considerando las mismas cinco plantas para todos los caracteres evaluados y tomando los datos al final de la floración, excepto en el primer carácter (FLOR\_PEDU).

- Número medio de flores por pedúnculo o racimo (FLOR\_PEDU): tomados al inicio de floración de cinco plantas tomadas al azar de cada unidad experimental o surco excluyendo los bordes.
- Altura de la parcela (ALT\_PAR) (cm): medida desde la inserción de la planta en el suelo hasta el último nudo, sin estirar ni tocar la planta, si no tal y como está en el terreno.
- Altura a primera vaina de la parcela (ALT1VAI\_PAR) (cm): medida desde la inserción de la planta en el suelo hasta el primer nudo con vaina, sin estirar ni tocar la planta, si no tal y como está en el terreno.
- Longitud de la planta (LON\_PLA) (cm): medida desde la inserción de la planta en el suelo hasta el último nudo, estirando la planta.
- Longitud a primera vaina (LON1VAI\_PLA) (cm): medida desde la inserción de la planta con el suelo hasta el primer nudo con vaina, estirando la planta.

- Número de ramas principales (RAMAS): número medio de ramas basales medido en cinco plantas tomadas al azar por cada surco.
- Tamaño del Foliolo (TAMFOL): pequeño (3), medio (5) y grande (7). Evaluado únicamente en el ambiente ZI07.

### **3.2.4.3.- CARACTERES RELACIONADOS CON LA FENOLOGÍA**

- Inicio de floración (INIFLO): fecha en la que el 50% de las plantas de la unidad experimental presentaban al menos una flor completamente abierta.
- Fin de floración (FINFLO): fecha en la que el 50% de las plantas de la unidad experimental presentaban caída de pétalos de las últimas flores.
- Maduración de la primera vaina (MAD1VAI): fecha en la que el 50% de las plantas de la unidad experimental presentaban madurez en la primera vaina formada.
- Maduración de la última vaina (MADULTVAI): fecha en la que el 50% de las plantas de la unidad experimental presentaban madurez en la última vaina formada.
- Madurez total (MAT) (días): fecha en la que todas las plantas de la unidad experimental presentaban una clara tonalidad amarillenta y las vainas secas, de color marrón tostado. Coincide con la fecha de cosecha.

En función de estas fechas se han generado los siguientes caracteres:

- Duración de la floración (DUF): es el periodo de floración comprendido entre el inicio y el final de la floración.  $DUF = FINFLO - INIFLO$
- Duración de la maduración de la primera vaina (DUMAD1VAI): número de días transcurridos entre la fecha de inicio de floración y la de maduración de la primera vaina.  $DUMAD1VAI = MAD1VAI - INIFLO$

## *Materiales y Métodos*

- Duración de la maduración de la última vaina (DUMADULTVAI): número de días transcurridos entre la fecha de fin de floración y la de maduración de la última vaina.  $DUMADULTVAI = MADULTVAI - FINFLO$
- Duración de la maduración (DUMADUR): número de días transcurridos entre la fecha de maduración a primera vaina y la fecha de madurez total.  $DUMADUR = MAT - MAD1VAI$
- Duración de la maduración total (DUMAT): número de días transcurridos entre la fecha inicio de floración y la fecha de madurez total.  $DUMAT = MAT - INIFLO$

### **3.2.4.4.- CARACTERES RELACIONADOS CON EL RENDIMIENTO**

- Biomasa por planta (BIOM\_5): promedio del peso total, en gramos, de las cinco plantas muestreadas en estado de maduración total, tras secado en estufa a 65° C durante 48/72 horas.
- Producción de semilla por planta (PSEM\_5) (g): promedio del peso de la semilla producida por las cinco plantas una vez trilladas.
- Peso de la paja por planta (PPAJA\_5): promedio del peso de la paja, en gramos, de las cinco plantas muestreadas en estado de maduración total. Se ha obtenido de la diferencia entre la biomasa y la producción de semilla por planta.
- Producción del resto del surco o parcela (PSEMS) (g): peso del grano del resto de surco o parcela experimental, sin las cinco plantas muestreadas.
- Peso de mil semillas (P1000): peso medio, en gramos, de tres muestras de 200 semillas y posteriormente extrapolado a mil semillas. Este carácter sólo se ha tomado en el ambiente ZI07 y se ha calculado un dato por unidad experimental.
- Índice de cosecha de 5 plantas (INDCOS5PL) (%) =  $(PSEM_5 / BIOM_5) * 100$ . Es el porcentaje respecto a la biomasa producida por las cinco plantas correspondiente a su producción de grano.
- Rendimiento (REND): calculado a partir de la producción del resto de surco (PSEMS) más la producción de las cinco plantas muestreadas (PSEM\_5), expresado en tm/ha.

Nota: Las cinco plantas muestreadas para los caracteres biomasa, producción de semilla por planta, peso de la paja e índice de cosecha han sido evidentemente las mismas, pero no tienen por qué ser las mismas que las consideradas para evaluar los caracteres relacionados con morfología anteriormente expuestos.

### **3.2.4.5- COVARIABLES AMBIENTALES**

A partir de la información aportada por las estaciones meteorológicas del aeropuerto de Villanubla ([www.tiempo.com](http://www.tiempo.com)), a cinco kilómetros en línea recta de los ensayos de Peñafior de Hornija, y de la red estaciones de Inforiego del ITACyL, situada en la misma parcela que los ensayos de Zamadueñas, se han generado las covariables ambientales que se muestran en la Tabla 13.

Estas covariables se han generado tanto para la totalidad del ciclo de cultivo, como cada uno de los tres periodos en que se ha dividido en función de los caracteres fenológicos tomados en campo:

1. Periodo de desarrollo vegetativo (Dv): comprendido entre la fecha de siembra y la fecha más temprana del inicio de floración.
2. Periodo de floración (Fl): comprendido entre la fecha más temprana de inicio de floración y la fecha más tardía de fin de floración.
3. Periodo de maduración (Md): comprendido desde la fecha final de floración de la línea más temprana hasta la fecha de maduración total de la línea más tardía. Hay que reseñar que este periodo engloba toda la formación, desarrollo y maduración del fruto y sus semillas, incluyendo por tanto, el llenado del grano.

En total se han generado 44 covariables ambientales, considerando el total del ciclo de cultivo y los periodos en que se ha dividido el mismo.

TABLA 13: Covariables climáticas calculadas para el ciclo completo, para el desarrollo vegetativo, para la floración y para la maduración.

<b>COVARIABLES CLIMÁTICAS</b>	<b>SÍMBOLO</b>	<b>UNIDADES</b>
Temperatura media	Tmed	°C
Temperatura máxima de máximas	Tmama	°C
Temperatura mínima de mínimas	Tmimi	°C
Temperatura media de máximas	Tmema	°C
Temperatura media de mínimas	Tmemi	°C
Precipitación	Prec	mm
Precipitación efectiva (P.MON.)	PrecEf	mm
Número de días de helada	DiaHel	días
Número de días de helada menor de -3°C	DiaHel3	días
Número de días de helada menor de -6°C	DiaHel6	días
Radiación neta	RadN	MJ/m <sup>2</sup>

### **3.3.- ENSAYOS DE TOLERANCIA A HELADA EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO**

#### **3.3.1.- METODOLOGÍA DEL PROCESO**

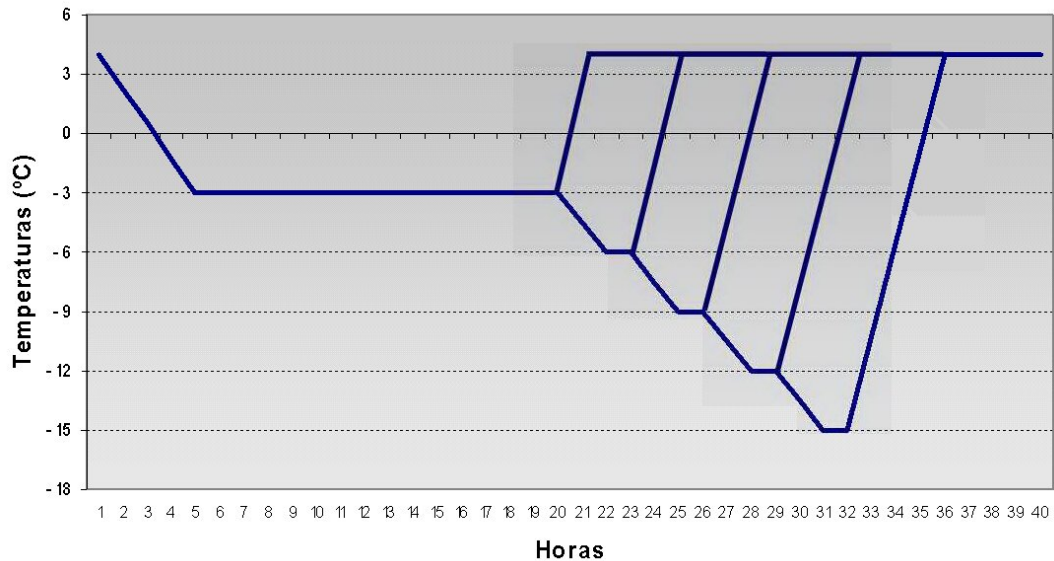
El método utilizado para el proceso de heladas al que se sometieron las distintas variedades está basado en la metodología definida para lenteja en Caminero y col. (2004), con algunas modificaciones, contemplando cinco niveles de tratamiento helada en función del umbral o rigor del tiempo de congelación y de la temperatura alcanzada. Así, cada nivel de helada considerado, pese a nombrarse de aquí en adelante simplemente por la temperatura de helada mínima alcanzada (-3, -6, -9, -12 y -15°C), se caracteriza por incluir los tratamientos anteriores menos rigurosos antes de alcanzar su temperatura mínima específica. Por tanto, se diferencia del nivel anterior no sólo en la temperatura mínima alcanzada sino en el tiempo de congelación total (ver Figura 9). Así el tiempo de exposición total final por debajo de 0°C es de 17 horas para el nivel denominado como de -3°C, de 20 horas para el de -6°C y de 23, 26 y 29 horas para los de -9, -12 y -15°C respectivamente.

Para cada nivel de helada, las plantas se sembraron de acuerdo a un diseño de dos bloques al azar. La unidad experimental estuvo constituida por una maceta de 9 x 9 x 9 cm<sup>3</sup> con una mezcla de turba, arena y vermiculita en proporción 2:1:1 en la que se



sembraron nueve semillas del mismo genotipo. De esta forma, se evaluaron un total de 18 semillas por genotipo y nivel de helada.

FIGURA 9: Programa de tratamientos de helada.



Tras la siembra, las macetas fueron fertilizadas con abono líquido complejo NPK 8:8:6 conteniendo oligoelementos. Se aportaron riegos a capacidad de campo cada cuatro días, siendo suspendidos los tres días anteriores al tratamiento de heladas.

El protocolo constó de cuatro pasos principales: inicio de desarrollo, aclimatación, proceso de heladas y recuperación.

1) Inicio de desarrollo: se sometió a las plantas a condiciones de 20°C día y 16°C noche, con fotoperiodo de 16 horas, hasta alcanzar el estado general de dos hojas

2) Periodo de aclimatación: con una duración de tres semanas con condiciones de fotoperiodo 12 h, 6°C día, 4°C noche.

3) Proceso de heladas: considerando los cinco niveles mencionados (-3, -6, -9, -12, -15°C) según se muestra en la Figura 9. El tiempo de exposición a -3°C tuvo una duración de 15 horas para favorecer el proceso de nucleación (Auld y col. 1983). Para el resto de temperaturas mínimas consideradas en cada nivel el tiempo de exposición tuvo una duración de una hora. La velocidad de descenso de temperatura se estableció en 1,5°C/hora,

## *Materiales y Métodos*

4) Recuperación: en primer lugar se mantuvieron las plantas 24h en condiciones de 4°C y oscuridad total para permitir el proceso de descongelación. Posteriormente se sometieron a un proceso durante cuatro días donde se fue ajustando paulatinamente la temperatura diurna y nocturna, así como la duración del fotoperiodo, hasta llegar a un fotoperiodo de 16 horas y unas temperaturas de 16°C por la noche y 20°C por el día, condiciones que se mantuvieron invariables durante un mes, momento en el que se procedió a la evaluación de daños.

Estas pruebas se repitieron dos veces considerando en ambas la población Precoz x WA8649041 y los 12 testigos ya enumerados anteriormente en la descripción de los ensayos de campo.

### **3.3.2.- CARACTERES EVALUADOS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO**

A lo largo de la ejecución del ensayo se han evaluado caracteres en tres momentos: al inicio de la aclimatación, al final de la aclimatación justo antes de dar los tratamientos de helada, y después de las heladas tras un periodo de recuperación de duración aproximada de un mes.

- Número de plantas nacidas (NAS): número de plantas emergentes antes de los procesos de helada.
- Número de plantas viables (VIA): número de plantas vivas un mes después del tratamiento de heladas.
- Número de plantas con el tallo principal viable (VTA): número de plantas vivas un mes después del tratamiento de heladas en las que se observa ápice de crecimiento del tallo principal viable y en desarrollo.
- Daños generales (DAGE): nivel de expresión de la sintomatología producida por las heladas evaluado un mes después de la aplicación de las mismas y siguiendo la siguiente escala:

- 0 plantas completamente sanas.
- 1 plantas con las hojas basales afectadas por la helada hasta el 20% de su limbo (bordes del limbo) pero ápices sanos.
- 2 plantas con las hojas basales afectadas por la helada hasta el 50% de su limbo pero ápices sanos.
- 3 plantas con las hojas basales afectadas por la helada hasta el 100% de su limbo, con las hojas apicales afectadas hasta el 50% de su limbo pero los ápices sanos.
- 4 plantas con todas las hojas afectadas completamente, ápice del tallo principal vivo, pero sin observarse crecimiento, y ápices de las ramificaciones sanos.
- 5 plantas con todas las hojas afectadas completamente, ápice del tallo principal muerto y los ápices de las ramificaciones vivos, pero sin observar crecimiento.
- 6 plantas completamente muertas.

En función de los parámetros anteriormente evaluados se han calculado los siguientes caracteres:

- Porcentaje de supervivencia viable (PSUPV): Relación porcentual entre el número de plantas viables post-helada respecto al número de plantas nacidas.  $PSUPV = VIA * 100 / NAS$ .
- Porcentaje de supervivencia del tallo principal (PSUPT): Relación porcentual entre el número de plantas vivas post-helada en las que se observa ápice de crecimiento del tallo principal viable y en desarrollo viables respecto al número de plantas nacidas.  $PSUPV = VTA * 100 / NAS$ .

Utilizando la expresión de los caracteres PSUPV y PSUPT definidos para cada línea y rango de temperatura evaluados, Barrios y col. (2010) definieron diferentes niveles de tolerancia genética a heladas atribuibles a cada línea particular. La información del nivel de tolerancia establecido en dicho estudio ha sido también considerada e incluida en la presente tesis para la generación de la covariable genotípica TOLHEL (tolerancia genética a heladas).

### **3.4.- METODOLOGÍA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

#### **3.4.1.- NOTAS SOBRE LOS ASPECTOS INFORMÁTICOS**

Para la realización de los análisis estadísticos de la presente tesis, en lo referente a analítica vinculada a ensayos de campo, se ha utilizado el paquete estadístico SAS v 9.2. En menor medida también se ha utilizado el programa estadístico SPSS v. 15.

La elaboración de gráficos ha sido realizada utilizando la hoja de cálculo Excel 2007.

#### **3.4.2.- PRIMERA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: SIMULACIÓN DE SELECCIÓN POR SUPERIORIDAD Y ESTABILIDAD EN RENDIMIENTO**

Sobre los 223 genotipos considerados (207 RILs de las dos poblaciones de estudio, junto con sus respectivos parentales y los 12 testigos), se ha aplicado el método de consistencia de comportamiento propuesto por Ketata y col. (1989), con algunas modificaciones inspiradas en el método de rangos estratificados de Fox y col. (1990).

El método de consistencia del comportamiento se basa en la clasificación de los genotipos en estudio en función de la media y desviación típica para un determinado carácter, normalmente el rendimiento, del orden o rango de los mismos en el conjunto de ambientes de estudio o en un grupo de ellos. Al ser un método no paramétrico, es menos sensible a posibles errores de medida, así como la adición u omisión de una o varias observaciones no causa grandes variaciones en las estimaciones (Cubero y Flores 2003).

El método original propone la representación de dos parámetros, media de los rangos en los distintos ambientes y desviación típica para cada genotipo, en un gráfico, en el que en el eje de las ordenadas se representa el valor del rango medio y en el de las abscisas el de su desviación típica. Considerando los valores genéricos tanto de la media de rangos totales como de las desviaciones típicas totales, se pueden establecer cuatro

cuadrantes generales sobre los cuales clasificar los distintos genotipos en función de su potencial de rendimiento (rango que ocupan en la clasificación general) y de la estabilidad o consistencia del mismo (dependiente de la dispersión establecida por la desviación típica).

Así, la propuesta del método pretende clasificar cada genotipo dentro del global analizado en una de las siguientes cuatro clases: cuadrante de inconsistencia inferior (orden medio alto y desviación estándar alta), cuadrante de consistencia inferior (orden medio alto y desviación estándar baja), cuadrante de inconsistencia superior (orden medio bajo y desviación estándar alta) y cuadrante de consistencia superior (orden medio bajo y desviación estándar baja).

De esta forma se facilita la hipotética selección de genotipos en función del potencial de rendimiento y su estabilidad, simplemente seleccionando aquellos que ocupen una situación de posición de rango medio con valores bajos (rango bajo, alto rendimiento) junto con una desviación estándar también baja (consistencia en la expresión, estable). Para un alto número de genotipos y de ambientes ambas variables no están correlacionadas, siendo posible seleccionar independientemente para alto rendimiento y baja variabilidad ambiental (Cubero y Flores 2003).

Pueden aparecer problemas en la aplicación directa de este método cuando se trabaja con un número relativamente alto de genotipos, puesto que la mera clasificación por el orden o rango no contempla las diferencias reales en la expresión del carácter original. Esto implica que su aplicación asume igualdad de diferencia entre rangos correlativos, cuando la experiencia indica que es muy común tanto la no existencia real de diferencias significativas en la expresión del carácter entre genotipos relativamente distantes en su ordenación, como la existencia de diferenciales de expresión entre diversos rangos correlativos. Este problema se diluye cuando en lugar de considerar la información directa de rangos se utiliza una clasificación estratificada de dichos rangos, en función de cuantiles de distribución en la ordenación por la expresión del carácter, tal y como propusieron Fox y col. (1990) en la distribución por terciles como paso previo a la aplicación de su método de rangos estratificados.

## *Materiales y Métodos*

En el presente estudio, en función del número de genotipos ensayados se ha considerado la estratificación previa en deciles por cada ambiente de forma previa a la aplicación del método de consistencia del comportamiento. De esta forma, cada decil tiene una inclusión teórica de 22,3 genotipos. Para solventar el problema de redondeo, se han considerado los nueve primeros deciles compuestos por 22 genotipos y el último (el menos productivo) por 25.

Otra modificación que aquí se propone en cuanto al método de consistencia del comportamiento es la consideración de un mayor número de zonas o regiones en las que se pueda clasificar a los genotipos. De nuevo, la experiencia dicta que cuando se trabaja con un número relativamente alto de genotipos, y más cuando gran parte de ellos constituyen poblaciones segregantes, la clasificación de genotipos superiores en cuanto a expresión de un carácter por el mero criterio de un rango superior al medio de la población en estudio, conlleva realmente a la selección de materiales generalmente con niveles interesantes en dicha expresión pero realmente con distinto nivel de graduación en el mismo. Es decir, este tipo de clasificación puede estar más dirigida a una eliminación de los peores genotipos pero puede no ser suficiente para una selección orientada a aquellos realmente superiores, cuyas frecuencias en la población pueden ser muy inferiores al 50% aproximado que se selecciona siguiendo estrictamente el método original propuesto. Un razonamiento similar puede hacerse para el parámetro vinculado a la estabilidad o consistencia de la expresión.

Por tanto, se ha propuesto en los análisis realizados la división del gráfico en 16 posibles zonas de clasificación de los genotipos. Para ello, las distintas zonas se han definido en función de la distribución en cuartiles de las proyecciones en el eje de ordenadas de las medias de rangos estratificadas en deciles y, de forma análoga, la distribución en cuartiles de las desviaciones típicas de los mismos.

La clasificación original en el eje de ordenadas en cuanto a “superior” se divide de esta forma en dos categorías “superior” y “alto” y la original en cuanto a “inferior” se divide en “bajo” e “inferior”. De forma análoga, la clasificación sobre el eje de abscisas original en cuanto a “consistentemente” se ha dividido en “muy consistentemente” y “consistentemente” y la original “inconsistentemente” se divide en

“inconsistentemente” y “muy inconsistentemente”. Se debe matizar que en aquellos casos en que el valor de la proyección para un determinado genotipo ha resultado coincidente con el valor establecido como límite entre cuartiles, ha sido finalmente clasificado en todos los casos mediante el criterio más conservador de inclusión en el cuartil inmediatamente inferior.

En una hipotética tarea de selección en cuanto a superioridad y estabilidad de rendimientos, los genotipos adecuados serían aquellos incluidos en la región definida como “muy consistentemente superior”.

Este tipo de métodos no paramétricos tienden a facilitar la clasificación, y selección en su caso, en función de criterios de adaptación general al global de ambientes considerado, pudiendo adolecer en algunos casos de suficiente precisión para contemplar selección por adaptación específica a alguno o a un grupo determinado de ellos. Una alternativa sencilla es realizar la aplicación del método tanto para el global de los ambientes como para grupos de ellos establecidos en función de la diferencia en algún determinado condicionante ambiental que pudiera resultar de interés para el mejorador (Cubero y Flores 2003). De esta forma, en la presente tesis este método se ha aplicado tanto considerando el total de los ambientes como los ambientes de siembra invernal y primaveral por separado.

### **3.4.3.- ANÁLISIS DE VARIANZA GENERAL**

A partir de este punto tan sólo se ha considerado la población Precoz x WA8649041 como material vegetal.

El objetivo de este análisis es una primera aproximación a la detección de posibles diferencias tanto genotípicas como ambientales, a la importancia que cada uno de estos dos factores puede representar en cuanto a las diferencias totales detectadas y la identificación de una posible existencia de interacción genotipo x ambiente (GxE en adelante) que deberá ser tenida en cuenta, caso de resultar significativa, para una correcta interpretación de los resultados y para definir correctamente el resto de la metodología empleada.

## *Materiales y Métodos*

Como paso previo se han comprobado las hipótesis de normalidad de residuos y normalidad de varianzas. Para la primera se ha utilizado la prueba de Levene (1960) y para la segunda la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (1965).

El modelo general utilizado para este análisis de varianza fue:

$$\text{modelo (1)} \quad Y_{ijk} = \mu + g_i + e_j + ge_{ij} + b_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Siendo:

$Y_{ijk}$  = valor fenotípico del genotipo  $i$ -ésimo en el bloque  $k$ -ésimo del  $j$ -ésimo ambiente.

$\mu$  = media total de todas las observaciones.

$g_i$  = efecto del genotipo  $i$ -ésimo.

$e_j$  = efecto del ambiente  $j$ -ésimo.

$ge_{ij}$  = interacción del genotipo  $i$ -ésimo en el ambiente  $j$ -ésimo.

$b_{jk}$  = efecto del bloque  $k$ -ésimo en el ambiente  $j$ -ésimo.

$\varepsilon_{ijk}$  = componente del error experimental, o variación residual de la observación en el bloque  $k$ -ésimo del ambiente  $j$ -ésimo para el genotipo  $i$ -ésimo.

Los efectos principales genotipo y ambiente son considerados factores fijos y el bloque es considerado como aleatorio.

Para la resolución del presente modelo de análisis de varianza (así como para todos los demás modelos utilizados en el presente estudio) se ha utilizado el procedimiento GLM (General Linear Model) del paquete estadístico SAS.



### **3.4.4.- SEGUNDA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA: INFLUENCIA DEL ADELANTO DE LA FECHA DE SIEMBRA SOBRE EL RENDIMIENTO**

El método de comparación de medias utilizado en el presente estudio es la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer (Tukey 1953, Kramer 1956), recomendado por la guía del usuario del SAS para datos desequilibrados (con independencia de la presencia de posibles datos perdidos, en algunas consideraciones de la descomposición en ambientes, que posteriormente se expondrán, los niveles definidos pueden estar desequilibrados y la definición de grupos en función de covariables genotípicas no tiene por qué definir grupos homogéneos), siendo también considerado como un buen método en caso de tamaños de celdas iguales.

La adopción de esta prueba también se justifica porque para comparaciones hechas a posteriori y si las implicaciones de tomar una decisión equivocada son importantes, es recomendable utilizar, al menos, una prueba conservadora como el método de Tukey (Romagosa y col. 2001), que proporciona intervalos de confianza de menor longitud (Arriaza y col. 2008).

### **3.4.5.- ANÁLISIS DE VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA**

El objetivo es detectar la significatividad y la importancia relativa en el modelo general de las posibles diferencias ambientales motivadas por el cambio en la fecha de siembra, considerando la descomposición del ambiente y de la interacción GxE en función de las diferencias entre fechas y en función de las diferencias dentro de cada fecha de siembra.

El modelo resultante es el siguiente:

$$\text{modelo (2)} \quad Y_{ijkm} = \mu + g_i + f_j + e(f)_{m(j)} + gf_{ij} + ge(f)_{im(j)} + b_{k(j)} + \varepsilon_{ijmk}$$

## *Materiales y Métodos*

Siendo:

- $Y_{ijkm}$  = valor fenotípico del genotipo  $i$ -ésimo en el bloque  $k$ -ésimo del  $j$ -ésimo ambiente en la  $m$ -ésima fecha de siembra.
- $\mu$  = media total de todas las observaciones.
- $g_i$  = efecto del genotipo  $i$ -ésimo.
- $f_j$  = efecto de la fecha de siembra  $j$ -ésima.
- $e(f)_{m(j)}$  = efecto del ambiente  $m$ -ésimo dentro de la fecha de siembra  $j$ -ésima.
- $gf_{ij}$  = componente de interacción para el genotipo  $i$ -ésimo en la fecha de siembra  $j$ -ésima.
- $ge(f)_{im(j)}$  = componente de interacción para el genotipo  $i$ -ésimo y para el ambiente  $m$ -ésimo dentro de la fecha de siembra  $j$ -ésima.
- $b_{k(j)}$  = efecto del bloque  $k$ -ésimo en el ambiente  $j$ -ésima.
- $\varepsilon_{ijmk}$  = componente del error experimental, o variación residual de la observación en el bloque  $k$ -ésimo del ambiente  $j$ -ésimo para el genotipo  $i$ -ésimo en la fecha de siembra  $m$ -ésima.

### **3.4.6.- ANÁLISIS AMMI**

El análisis AMMI (Additive Main effects and Multiplicative Interaction) (Mandel, 1971, Gauch 1988, Zobel y col. 1988, Gauch y Zobel 1997) combina el análisis de varianza para los efectos principales aditivos (genotípico y ambiental) con el análisis por componentes principales para la interacción GxE, siendo ampliamente utilizado en ensayos de rendimiento. El modelo AMMI es el que sigue:

$$\text{modelo (3)} \quad Y_{ijk} = \mu + g_i + e_j + \sum \lambda_n c_{ik} d_{jk} + \theta_{ij} + b_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- $\mu$  = media total de todas las observaciones.
- $g_i$  = efecto del genotipo  $i$ -ésimo.
- $e_j$  = efecto del ambiente  $j$ -ésimo.
- $\lambda_n$  = autovalor del eje  $n$  del análisis por componentes principales de la interacción.

$c_{ik}$  = es el vector propio unitario del genotipo  $i$ -ésimo asociado al eje  $n$ . Puede ser interpretado como sensibilidades genotípicas.

$d_{jk}$  = es el vector propio unitario del ambiente  $j$ -ésimo asociado al eje  $n$ . Puede ser interpretado como caracterizaciones ambientales (van Eeuwijk y col. 2005)

$b_{jk}$  = efecto del bloque  $k$ -ésimo en el ambiente  $j$ -ésimo.

$\theta_{ij}$  = es el residual de la interacción.

Los vectores unitarios son adimensionales, estando las unidades incluidas en el factor  $\lambda$ .

El ajuste de este modelo se realiza en dos etapas. En la primera etapa se estiman los efectos aditivos según el modelo (1). En la segunda etapa se genera una matriz de interacción GxE como residuo del modelo (1) y se descompone en valores singulares que permiten estimar los vectores unitarios genéticos y ambientales (Romagosa y col. 2008).

Las coordenadas genotípicas (IPCAn<sub>g</sub>) y ambientales (IPCAn<sub>e</sub>) se calculan multiplicando cada uno de los vectores unitarios por la raíz cuadrada del autovalor del eje sobre el que están definidos (IPCA, Interaction Principal Component Analysis). Estas coordenadas genotípicas y ambientales constituirán una excelente matriz de datos con la que poder buscar relaciones con otros caracteres o variables, tanto genotípicas como ambientales, que puedan explicar las distintas expresiones de los rendimientos encontradas (Caminero 2002).

Los grados de libertad para cada eje definido se calculan a partir de la fórmula propuesta por Gollob (1968):

$$Gl = g + a - 2n$$

Donde “g” es el número de genotipos, “a” el de ambientes y “n” el número de orden en la definición del eje en el proceso de componentes principales.

## *Materiales y Métodos*

La suma de cuadrados para cada eje se obtiene multiplicando la suma de cuadrados de la interacción GxE por el porcentaje de variación retenido en cada eje.

A partir de aquí se puede completar una tabla estándar de análisis de varianza para la definición del número de ejes que deben ser incluidos en el modelo (son significativos), con la obtención del estadístico F aproximado (Gollob 1968) que compara los cuadrados medios de cada eje con el cuadrado medio del error experimental o residuo puro.

Para apoyar en la decisión del número de ejes a seleccionar se puede considerar un máximo de explicación de la interacción basado en el porcentaje de ruido que ésta pueda englobar (Gauch 1992). Para dicho cálculo se multiplica el cuadrado medio del error experimental por los grados de libertad de la interacción GxE, lo que nos define la suma de cuadrados atribuible al ruido presente en la interacción. El máximo de la suma de cuadrados de interacción, que se considera debe explicarse, se obtendrá restando a la suma de cuadrados de la interacción la suma de cuadrados atribuible a ruido.

Una forma alternativa muy sencilla para establecer el número de términos bilineales a retener consiste en determinar aquéllos que explican un porcentaje mayor que el esperado de acuerdo a la suma de cuadrados de GxE. Este valor corresponde a dividir 100% por el mínimo del número de genotipos menos uno o del número de ambientes menos uno (Romagosa y col. 2008).

El análisis AMMI permite la obtención de gráficos de dispersión de fácil interpretación en cuyos ejes se pueden representar tanto los efectos principales (en forma de medias genotípicas y ambientales) como las coordenadas de los ejes de explicación de la interacción (Voltas y col. 1999a).

En general, cuando lo que se representa son los efectos principales y las coordenadas sobre un eje IPCA (normalmente IPCA1 por ser el que mayor porcentaje de interacción explica), el efecto de interacción de un genotipo en un determinado ambiente será positivo cuando las coordenadas genotípica y ambiental sobre el eje IPCA compartan el mismo signo, y negativo cuando sean de signos distintos. Si son dos

ejes IPCA de interacción los que se representan, el valor de la interacción puede observarse en función de la distancia al origen de la proyección ortogonal del punto en el gráfico del genotipo sobre la recta que une el origen con el punto definido para el ambiente. El signo de la interacción será positivo si el ángulo formado entre los vectores del genotipo y del ambiente es agudo, y negativo si forman un ángulo obtuso (Voltas y col. 2002).

Desde un punto de vista práctico no es aconsejable la utilización de más de tres ejes de explicación de la interacción, pues interpretar con un número mayor de ejes es una tarea compleja y, muchas veces ineficaz; demostrando la experiencia que, pese a poder haberse obtenido significatividad en la variación explicada por el cuarto eje o superior, ésta suele estar dominada por ruido o no tener una interpretación biológica (Gauch y Zobel 1996).

### **3.4.7.- DETECCIÓN DE COVARIABLES AMBIENTALES INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE**

#### **3.4.7.1.- PRIMERA APROXIMACIÓN: ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN DE LAS COVARIABLES AMBIENTALES CON LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Como una primera aproximación al proceso de definición de covariables ambientales explicativas de los comportamientos diferenciales en rendimiento, se ha calculado el coeficiente de correlación de Pearson (1896) entre cada una de las covariables ambientales iniciales con el rendimiento y ejes AMMI obtenidos. Se ha considerado significatividad en la correlación para valores de probabilidad asociados menores de 0,05.

La fórmula para la obtención de la correlación utilizada es:

$$r_{xy} = \frac{\sum (x_i - \mu_x)(y_i - \mu_y)}{\sqrt{\sum (x_i - \mu_x)^2 \sum (y_i - \mu_y)^2}}$$

## *Materiales y Métodos*

Donde  $r_{xy}$  es la correlación entre los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $x_i$  e  $y_i$  hacen referencia al valor para la observación  $i$ -ésima de los caracteres  $x$  e  $y$ ;  $\mu_x$  y  $\mu_y$  son la media de los caracteres  $x$  e  $y$  respectivamente.

### **3.4.7.2.- SEGUNDA APROXIMACIÓN: MODELIZACIÓN POR REGRESIÓN FACTORIAL FRENTE A LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Una segunda aproximación a la definición de covariables ambientales de interés ha sido la incorporación en los distintos modelos de covariables ambientales mediante regresión factorial (Romagosa y col. 2008), según el modelo (4), que permite profundizar en la determinación de aquellos factores ambientales frente a los que los genotipos responden de manera diferencial (Voltas y col. 2002), facilitar el análisis de la interacción  $G \times E$ , así como relacionar valores ambientales con los ejes AMMI obtenidos. Un aspecto importante en la regresión factorial es la definición del proceso de selección de covariables ambientales, ya que el número de covariables ambientales puede ser muy elevado y los criterios estrictamente estadísticos no necesariamente conducen a modelos agrónomicamente justificables (Romagosa y col. 2008), lo que hace necesario el identificar la mejor manera de describir un ambiente (Cooper y Hammer 1996).

$$\text{modelo (4)} \quad y_i = a + \sum b_i x_i$$

Donde:

- $a =$  se refiere al término independiente de cada covariable la sensibilidad ambiental del  $i$ -ésimo genotipo frente a cambios en la  $k$ -ésima variable ambiental. Expresan valores diferenciales con media cero.
- $b_i =$  es la pendiente de la recta de regresión  $i$ -ésima.
- $x_i =$  representa el valor de la  $i$ -ésima covariable ambiental.

Como particularidad en la regresión factorial, se ha considerado responder a las cuestiones tales como cuales de las covariables constituyen el mejor modelo predictivo, si existen relaciones entre ellas o si cada una puede encerrar un valor predictivo propio y si una posible influencia directa de alguna covariable puede enmascarar u ocultar a otros de posible interés. Esta parte se ha abordado utilizando como variable dependiente

las proyecciones ambientales sobre el eje del modelo AMMI2 y como variables independientes las 44 covariables ambientales consideradas desde un principio, utilizando para el proceso selectivo de inclusión en el modelo de regresión factorial final (modelo 4), el procedimiento que se describe a continuación:

La finalidad perseguida es buscar de entre todas las posibles variables explicativas aquellas que más y mejor expliquen a la variable dependiente sin que ninguna de ellas sea combinación lineal de las restantes. Este procedimiento implica que: (1) en cada paso sólo se introduce aquella variable independiente que mayor coeficiente de determinación parcial explique sobre la variable dependiente, dentro de las que cumplen unos criterios de entrada; (2) una vez introducida y eliminada del modelo su variación respecto a la variable dependiente, en cada paso subsiguiente se valora si alguna de las variables cumple de nuevo con el criterio de entrada; si a medida que se van incluyendo variables en el modelo alguna de las anteriormente incluidas cumple con un criterio de salida, es eliminada del modelo; y (3), en cada paso se valora la bondad de ajuste de los datos al modelo de regresión lineal y se calculan los parámetros del modelo verificado en dicho paso (Rodríguez 2001).

En la presente tesis se ha utilizado tanto como criterio de entrada como de salida la probabilidad asociada a la hipótesis nula  $< 0,05$ . Es decir, el requisito necesario (no suficiente) para que una covariable se incluya en el modelo es el de su  $p < 0,05$ , y el requisito necesario (y suficiente), para que salga del modelo es si en algún momento del proceso, al considerar la información conjunta del resto de covariables incluidas, pierde ese nivel de significatividad.

#### **3.4.8.- DETECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE**

De manera análoga al punto anterior, se ha considerado el modelo que permite determinar sensibilidades genotípicas a cambios en covariables genéticas explícitas, incorporando aquellas que potencialmente justifiquen diferencias observadas en los efectos principales o en la interacción (Romagosa y col. 2008.).

### **3.4.8.1.- ESTUDIO DE LA HEREDABILIDAD Y ELECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS PRELIMINARES**

Una condición imprescindible para que cada una de las covariables genotípicas pueda ser interesante, en cuanto a su posible uso en mejora por selección indirecta para rendimientos, es que sea heredable (Austin 1993).

Por tanto, previo a la inclusión de cualquier covariable genotípica en el modelo, se ha establecido un primer requisito en cuanto a su heredabilidad, calculada en función de los ensayos de campo.

Se ha realizado en función de la fórmula:

$$H = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2 + \sigma_{error}^2)$$

Donde H es la heredabilidad en sentido amplio para el carácter de interés,  $\sigma_g^2$  es la varianza genotípica,  $\sigma_{ge}^2$  es la componente de varianza atribuible a la interacción GxE y  $\sigma_{error}^2$  es el error experimental.

Dado que los ambientes ensayados se caracterizan principalmente por la fecha de siembra (invierno o primavera), también se ha considerado calcular la heredabilidad en función de la fecha de siembra, obteniéndose finalmente para cada covariable o carácter tres tipos de heredabilidad: general, invierno y primavera. Esto permite ver en qué tipos de ambientes es más heredable un carácter, y en caso de que ese carácter tenga importancia en las diferencias encontradas entre genotipos, o tenga importancia en la interacción GxE, permite conocer bajo qué tipo de ambiente tiene sentido aplicar ese carácter para fines de mejora.

Según Stanfield (1971) los caracteres se consideran de heredabilidad alta cuando ésta es mayor de 0,5, de heredabilidad media entre 0,20 y 0,50, y de heredabilidad baja si es menor de 0,20. Valores altos de heredabilidad sugieren que la variación existente es principalmente de naturaleza genética, lo que permitiría prever mayores avances mediante selección.



En función de ello, en este estudio tan sólo se han considerado para su posible inclusión en los modelos de análisis del rendimiento aquellas covariables que hayan presentado en al menos una de las tres condiciones ambientales una heredabilidad mayor de 0,5.

#### **3.4.8.2.--ANÁLISIS DE LA VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA UNA VEZ INCLUIDAS LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS**

Tras la selección de las covariables genotípicas que cumplan el criterio de heredabilidad, se han incluido en el análisis de la varianza con el fin de ver su influencia en la la interacción GxE y sus componentes: fecha de siembra, conjunto de ambientes de siembra invernal y conjunto de ambientes de siembra primaveral.

#### **3.4.8.3.- PRIMERA APROXIMACIÓN: ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN DE LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS CON EL RENDIMIENTO Y CON LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Se ha estudiado la correlación, de forma análoga a las covariables ambientales, a través del coeficiente de correlación de Pearson entre las covariables genotípicas seleccionadas y los ejes del modelo AMMI (expuesto en el capítulo 3.4.7.1.-), si bien, en esta ocasión se ha también se ha considerado la componente aditiva genotípica del rendimiento.

#### **3.4.8.4.- SEGUNDA APROXIMACIÓN: MODELIZACIÓN POR REGRESIÓN FACTORIAL FRENTE A LOS EJES DEL MODELO AMMI**

La segunda aproximación se ha calculado de forma análoga a las covariables ambientales, expuesto en el capítulo 3.4.7.2.-.

### **3.4.9.- DEFINICIÓN DE UN MODELO INCLUYENDO INFORMACIÓN GENOTÍPICA Y AMBIENTAL**

#### **3.4.9.1.- REGRESIÓN FACTORIAL CONSIDERANDO COVARIABLES AMBIENTALES Y GENOTÍPICAS MEDIANTE**

El último paso en el estudio de la interacción GxE es la integración de la información explícita disponible, ambiental y genética, en un único modelo mediante regresión factorial (van Eeuwijk y col. 1995), donde el término  $ge_{ij}$  del modelo (1) se divide en:

$$\text{modelo (5)} \quad ge_{ij} = \sum \sum x_{ig} Y_{gh} z_{jh} + ge'$$

Siendo:

- $ge_{ij}$  = la interacción GxE del genotipo i-ésimo y del ambiente j-ésimo.
- $x_{ig}$  = el valor de la covariable genotípica g-ésima para el genotipo i-ésimo.
- $z_{jh}$  = el valor de la covariable ambiental h-ésima en el ambiente j-ésimo.
- $Y_{gh}$  = la constante que cuantifica cómo el cambio en una unidad de la covariable ambiental h-ésima afecta a la covariable genotípica g-ésima.
- $ge'$  = residuo de la interacción GxE.

La estrategia para la inclusión en el modelo pasa por el estudio de todas las interacciones posibles generadas a partir de la combinación de las covariables genotípicas con las covariables ambientales. En un primer paso, se incluye aquella interacción que representó mayor coeficiente de determinación parcial respecto a la interacción GxE, definiéndose el residual no explicativo por la misma. Se repite el proceso en un segundo paso incluyendo aquella nueva interacción que explica el mayor coeficiente de determinación parcial del residual generado en el paso anterior, y así sucesivamente. La aplicación de varios pasos devuelve un listado con las interacciones concretas que mayor peso representan en la interacción GxE.

Una vez identificadas las interacciones entre covariables más representativas, se han introducido en el modelo siguiendo un criterio ontológico (Votas y col. 1999a,

1999b), de tal forma que en función de los periodos en que se ha dividido el ciclo de cultivo, se han introducido primero las que ocurren durante el desarrollo vegetativo, luego durante la floración y finalmente, durante la maduración. Dentro cada uno de los tres periodos de cultivo, se han considerado primero en función del momento de la toma del dato, y en caso de ser tomadas en el mismo momento, se ha considerado primero aquella con mayor coeficiente de determinación parcial.

El fin es obtener información acerca de cuál es la contribución, tanto individual como conjunta, de cada interacción entre covariables en la interacción GxE e indagar sobre la importancia de cada momento fenológico en la interacción GxE.

#### **3.4.9.2.- SENSIBILIDAD DE LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS FRENTE A CAMBIOS EN LOS CONDICIONANTES AMBIENTALES**

Mediante regresión factorial, se pueden determinar sensibilidades genotípicas frente a cambios en variables ambientales explícitas, y también justificar diferencias observadas entre los genotipos o en la interacción GxE (Romagosa y col. 2008). Considerando un conjunto de genotipos dados, en unos ambientes ensayados, y considerando las interacciones entre covariables ambientales y las covariables genotípicas, se puede relacionar la expresión diferencial de una covariable genotípica con la covariable ambiental que más interacciona de cara a explicar la interacción GxE. Esto permite proporcionar una base fisiológica o genética a alguna de las respuestas diferenciales frente a distintos ambientes permitiendo dilucidar los factores agroecológicos o genéticos responsables de la interacción GxE.

La sensibilidad se obtiene a través de la regresión que relaciona en el eje de ordenadas cada uno de los niveles observados para una variable ambiental de interés, frente a las proyecciones en el eje de abscisas de los efectos aditivos sobre el rendimiento observados para cada incremento unitario en una covariable genotípica para la que se ha detectado expresión diferencial sobre el rendimiento. El efecto aditivo particular en cada nivel definido de variable ambiental de cada covariable genotípica a representar, se obtiene previamente a partir de la pendiente definida para la recta de regresión obtenida en cada nivel de dicha variable ambiental, en la que la variable

## *Materiales y Métodos*

dependiente es el rendimiento y la independiente la expresión de la covariable genotípica de interés.

### **3.5.- MAPEO GENÉTICO DE COVARIABLES GENOTÍPICAS RELACIONADAS CON EL RENDIMIENTO Y LA ADAPTACIÓN EN CAMPO, Y CON LA TOLERANCIA A HELADAS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO**

Para la realización del mapa genético se ha considerado la población Precoz x WA8649041.

#### **3.5.1.- CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS PARENTALES**

##### **3.5.1.1.- EXTRACCIÓN DE ADN**

Cada muestra de ADN se extrajo a partir una mezcla de seis plantas para cada línea RIL, formada por hojas frescas de plantas de dos semanas de edad, hasta conseguir una cantidad total de 100 mg de materia fresca.

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit comercial “DNeasy Plant Minikit” (QIAGEN, Valencia, Calif.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La cantidad de ADN extraído fue cuantificada mediante comparación visual con controles de ADN de fago  $\lambda$  de concentración conocida (25, 50, 125, 250 y 500 ng) en geles de agarosa al 1 % en Tris/borato EDTA 1X.

##### **3.5.1.2.- ANÁLISIS DE MICROSATÉLITES (SSR)**

Se han probado microsatélites previamente publicados en lenteja, así como desarrollados para guisante y garbanzo. El número y referencia bibliográfica partir de la que se ha definido este material de partida aparece en la Tabla 14.

Se usaron inicialmente un total de 54 parejas de microsatélites de lenteja en los parentales, siendo 44 de ellos desarrollados por el ICARDA (Hamwieh y col. 2005,

2009), cinco por el Departamento de Genética de la Universidad de León (Durán y col. 2004) y otros cinco publicados por Zavodná y col. (2000). Las reacciones de PCR fueron realizadas según las condiciones descritas por los correspondientes autores, empleando un volumen total por muestra de 15 µl y en los microsátélites del ICARDA la concentración de MgCl<sub>2</sub> fue de 1,5 mM.

Además se han probado 305 microsátélites de guisante (Pandian y col. 2000, Burstin y col. 2001, Loridon y col. 2005) y 64 microsátélites de garbanzo (Choumane y col. 2004) siguiendo las indicaciones de los autores para las reacciones PCR y empleando también 15 µl de volumen total por reacción.

TABLA 14: Microsátélites empleados para la caracterización de los parentales.

Número	Aplicados en	Referencia
44	Lenteja	Hamwiah y col. 2005 Hamwiah y col. 2009
5	Lenteja	Durán y col. 2004
5	Lenteja	Závodná y col. 2000
14	Guisante	Pandian y col. 2000
64	Garbanzo	Choumane y col. 2004
43	Guisante	Burstin y col. 2001
248	Guisante	Loridon y col. 2005
TOTAL: 423		

Los productos de amplificación fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa de alta resolución al 3,5% en TBE1X (Tris/Borato EDTA) durante 6 horas a 180V. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio, visualizándose las bandas de ADN con luz ultravioleta y luego fotografiados. En todos los geles se incluyó un marcador de peso molecular de 100/1000 pb (Marcador 100 bp ladder, Biotools). Para asegurar que los resultados fueran repetibles, todas las reacciones se repitieron al menos dos veces, empleando diferentes termocicladores del mismo modelo (Verita 96 Well ThermalCycler, Applied Biosystems), y con reacciones preparadas en diferentes días.

### **3.5.1.3.- ANÁLISIS DE INTERMICROSATÉLITES (ISSR)**

Se han empleado un total de 104 intermicrosatélites: 100 producidos por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de la Columbia Británica, Vancouver, BC, (serie nº 9), empleados por Kahraman y col. (2004b), y cuatro publicados por Zavodná y col. (2000). Para su aplicación se siguieron las indicaciones de Kahraman y col. (2004b) y de Zavodná y col (2000). Los volúmenes de reacción de PCR empleados fueron de 15 µl. La electroforesis se realizó en geles de agarosa al 2.0% en TAE1X durante 3 horas a 150V. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio, visualizándose las bandas de ADN con luz ultravioleta y luego fotografiados. En todos los geles se incluyó un marcador de peso molecular de 100/1000 pb (Marcador 100 bp ladder, Biotools). Para asegurar que los resultados fueran repetibles, se procedió como en el caso anterior.

### **3.5.1.4.- ANÁLISIS DE MARCADORES RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA)**

Se han probado un total de 11 cebadores obtenidos por Operon Technologies (Alameda, CA, USA), aplicados por Kahraman y col. (2004b) y Eujayl y col. (1998). La PCR fue realizada en un volumen de 15 µl siguiendo las indicaciones de Kahraman y col. (2004b) y Eujayl y col. (1998). Los productos PCR fueron separados y visualizados igual que los intermicrosatélites.

### **3.5.1.5.- ANÁLISIS DE MARCADORES AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)**

Para el análisis de AFLPs se ha empleado el AFLP® Plant Mapping Kit (PE Applied Biosystems) según indicaciones del fabricante, cuyo protocolo está basado en Vos y col. (1995). El ADN genómico extraído fue digerido con una combinación de enzimas de restricción *EcoRI* y *MseI*, y a continuación, se ligaron en los extremos de los fragmentos digeridos, unos adaptadores específicos de doble cadena. La preamplificación fue realizada con cebadores preselectivos en cuyo extremo 3' se ha añadido un nucleótido selectivo (*MseI* cebador+C; *EcoRI* cebador+A). Las condiciones de la PCR para la amplificación preselectiva comenzaron con 94°C, 2 min, seguido de

20 ciclos a: 94°C, 2 seg – 56°C, 30 seg – 72°C, 2 min, y finalizando a 60°C, 30 min. La amplificación selectiva de los fragmentos de restricción se realizó con cebadores con tres nucleótidos selectivos, empleando un total de diez combinaciones (Tabla 15). Las condiciones de la PCR para la amplificación selectiva se especifican también en la Tabla 15. Los cebadores *EcoRI* fueron marcados con tres fluorocromos diferentes por separado (FAM, NED o JOE). Los fragmentos obtenidos en la amplificación selectiva fueron separados por medio de electroforesis capilar en el analizador genético ABI PRISM 310 (PE Applied Biosystems), y los datos se analizaron mediante el programa GeneMapper® Software.

TABLA 15: Combinaciones empleadas para los AFLP y condiciones de la PCR para la amplificación selectiva.

Combinación 1	<i>MseI</i> CAA + <i>EcoRI</i> ACA FAM		
Combinación 2	<i>MseI</i> CAC + <i>EcoRI</i> ACC NED		
Combinación 3	<i>MseI</i> CAC + <i>EcoRI</i> ACT FAM		
Combinación 4	<i>MseI</i> CAG + <i>EcoRI</i> AGC NED		
Combinación 5	<i>MseI</i> CAG + <i>EcoRI</i> AAG JOE		
Combinación 6	<i>MseI</i> CTA + <i>EcoRI</i> AAG JOE		
Combinación 7	<i>MseI</i> CTA + <i>EcoRI</i> ACT FAM		
Combinación 8	<i>MseI</i> CTC + <i>EcoRI</i> AAC NED		
Combinación 9	<i>MseI</i> CTC + <i>EcoRI</i> ACA FAM		
Combinación 10	<i>MseI</i> CAG + <i>EcoRI</i> AGG JOE		
CONDICIONES			Nº de ciclos
94 °C 2 min.	–	–	1
94 °C 20 sec.	66 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	65 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	64 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	63 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	62 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	61 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	60 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	59 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	58 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	57 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	56 °C 30 sec.	72 °C 2 min.	20
60 °C 30 min.	–	–	1
4 °C	–	–	∞

**3.5.1.6.- ANÁLISIS DE MARCADORES MFLP (Microsatellite-anchored Fragment Length Polymorphism)**

Para los MFLP (Yang y col. 2001) se ha partido de las ampliificaciones preseleccionadas realizadas en los AFLPs, pero la ampliificación selectiva se ha realizado con unas combinaciones diferentes (Tabla 16), en vez de emplear cebadores *EcoRI*, se han empleado los siguientes cebadores: MF01 (GTCCGAGAGAGAGAGA), MF11(GGACCTCTCTCTCTCT), MF51 (GGGAACAACAACAAC), MF52 (GGGAAGAAGAAGAAG) y MF153 (CCTTACACACACACAC), que se anclan en motivos microsatélite. El análisis de fragmentos obtenidos en la ampliificación selectiva se realizó por medio de electroforesis capilar en analizador genético ABI PRISM 310 (PE Applied Biosystems), y los datos se analizaron mediante el programa GeneMapper® Software.

TABLA 16: Combinaciones empleadas para los MFLP y condiciones de la PCR para la ampliificación selectiva.

Combinación 1 MseI CAA + MF01 FAM			
Combinación 2 MseI CAA + MF11 FAM			
Combinación 3 MseI CAA + MF153 NED			
Combinación 4 MseI CAA + MF51 FAM			
Combinación 5 MseI CAA + MF52 NED			
CONDICIONES			Nº de ciclos
90 °C 1 min.	60 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	59.3 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	58.6 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	57.9 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	57.2 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	56.5 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	55.8 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	55.1 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	54.4 °C 1 min.	72 °C 2 min.	1
94 °C 20 sec.	54 °C 1 min.	72 °C 2 min.	25
4°C	-	-	∞



### **3.5.1.7.- NOMENCLATURA DE LAS BANDAS**

Los microsatélites e intermicrosatélites se han designado tal y como fueron nombrados por los autores de la bibliografía en que se definen. Los marcadores RAPDs fueron denominados considerando su número de serie comercial seguido por un número que indica el tamaño estimado del fragmento en pares de bases, por ejemplo, OPS16\_750.

Los marcadores AFLPs se han denominado con los nucleótidos específicos de la amplificación selectiva correspondiente (*MseI* y *EcoRI*), seguido del tamaño estimado del fragmento en pares de bases (CAA\_ACA\_290, por ejemplo). De forma análoga, los marcadores MFLP se han nombrado según el cebador complementario al motivo microsatélite, de la amplificación selectiva, seguido de los nucleótidos específicos de la amplificación selectiva de los fragmentos *MseI*, y por último, del tamaño estimado del fragmento en pares de bases (MF153\_CAA\_290, por ejemplo).

### **3.5.1.8.- MARCADORES MORFOLÓGICOS**

En las semillas se evaluaron , para cada línea, los caracteres color del cotiledón (gen *Yc*), color de la semilla (Col\_1) y el color del dibujo de la semilla en caso de que lo tenga (Col\_2).

### **3.5.2.- CONSTRUCCIÓN DE UN MAPA GENÉTICO Y ANÁLISIS DE LIGAMIENTO**

Se han empleado 87 RIL en F<sub>6</sub> de la población Precoz x WA8649041 para aplicar los marcadores que resultaron ser polimórficos en los parentales. El análisis de ligamiento ha sido realizado con el programa JoinMap®4 (van Ooijen 2006). Los grupos de ligamiento fueron establecidos mediante el cálculo del valor LOD del test por independencia, indicando un valor inicial de 2,0, un valor final de 10,0 y un tamaño de 1,0 en cada paso, para determinar los rangos y pasos de niveles de significación que han sido utilizados en el agrupamiento.

## *Materiales y Métodos*

El orden de los marcadores dentro de los grupos se estableció mediante el método de mapeo por regresión, y se calcularon las distancias mediante la función de Kosambi (Kosambi 1944).

### **3.5.3.- DETECCIÓN DE QTLs LIGADOS A LOS CARACTERES MEDIDOS**

La detección de QTLs se ha realizado con el programa MapQTL 5.0 (van Ooijen 2004). Para los caracteres que cumplen la normalidad, mediante la prueba de Kolgomorov-Smirnov con la modificación de Lilliefors (Steel y Torrie 1981), se ha aplicado el método “Interval Mapping” y “Multiple-QTL Model”. El LOD umbral se calculó de manera independiente para cada carácter con el test de permutaciones (1.000 permutaciones).

Para aquellos caracteres que no se ajustaban a una distribución normal mediante la prueba de Kolgomorov-Smirnov con la modificación de Lillefors, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (1952), como método de detección de QTL, con un nivel de significatividad de 0,005 (van Ooijen 2004).

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## **4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1.- ESTUDIO DEL RENDIMIENTO**

#### **4.1.1.- PRIMERA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA:**

##### **SIMULACIÓN DE SELECCIÓN POR SUPERIORIDAD Y**

##### **ESTABILIDAD EN RENDIMIENTO**

El principal objetivo de esta parte es la obtención de indicios que justifiquen o desmientan el interés práctico real para continuar con los esfuerzos vinculados con la mejora genética de la lenteja, en cuanto a su posible contribución en la solución de la situación actual de este cultivo en Castilla y León, parcialmente negativa (o muy negativa, dependiendo de la bondad en la crítica del lector) tal y como se ha intentado exponer en el capítulo de introducción. Esta situación negativa es referente a su consideración como alternativa en las rotaciones en zonas en las cuales no existe, *a priori*, la posibilidad de obtener un sobreprecio del producto por no estar incluidas en ninguna figura de calidad. Es decir, en estos casos, el desequilibrio favorable de la balanza involucrada en el parámetro rentabilidad, en lo que a influencia de los ingresos puede suponer, debe estar dirigida a la componente del incremento en el rendimiento y en su estabilidad.

Al respecto, quizá merezca la pena exponer una serie de reflexiones antes de proceder con la exposición de los resultados y su discusión. Reflexiones que pretenden orientar de forma previa al lector acerca de la filosofía del desarrollo de los distintos puntos que proseguirán.

La presente tesis se ha planteado entre sus objetivos el que, antes de iniciar concienzudos y muchas veces tediosos estudios o largos planes de mejora, se debe responder previamente a una pregunta básica, pero no siempre considerada, relativa al interés real que puede presentar el plantearse la investigación en lenteja como una

## *Resultados y Discusión*

contribución a las posibles soluciones de cara el agricultor castellano y leonés en cuanto a la realización de sus rotaciones de cultivos.

Motivado por esa eminente orientación práctica con la que nació la presente tesis, dicho interés real de la lenteja como un cultivo adecuado se ha de considerar en cuanto a la concepción de la exploración sobre parámetros de rendimiento y su vinculación final con posibles umbrales de beneficio.

En nuestro caso, esta aproximación no se ha orientado en función de sus beneficios agronómicos teóricos en cuanto a pertenencia a la familia de las leguminosas, sino focalizando especialmente en otros más pragmáticos, pero que en gran parte de las ocasiones, por no decir en prácticamente todas, suponen el verdadero criterio decisorio en cuanto a la decisión de qué cultivos sembrar por parte de los agricultores: aquellos relativos a la rentabilidad directa que potencialmente pueden aportar.

Y en nuestro caso también se pretende una abstracción de la realidad marcada por las ayudas y subvenciones, escenario éste cambiante con el tiempo y que motiva la calificación de muchas decisiones temporales como de “pan para hoy, hambre para mañana”. Se ha preferido considerar un concepto más empresarial, pues no debemos ser ajenos a la realidad que, y cada vez más, la actividad agrícola es una actividad empresarial.

Quizá suene fría esa expresión comparada con los viejos pensamientos del profano en la materia, sobre la imagen idílica del campo y el labriego proporcionando alimentos y otros bienes a sus congéneres. Desde aquí el deseo que estos pensamientos no se destierren, pues aún guardan, y esperemos sigan guardando siempre, un fondo de realidad y justificativo de la actividad agrícola, pero la cruda realidad dicta que tanto aquel labriego de vieja boina alentando a su mulas, como el agricultor profesional de hoy en día, siempre han sido en definitiva personas, que también han de comer y satisfacer sus necesidades y, por qué no, caprichos, con lo que tenderán a orientar su trabajo y producciones a aquello que realmente les reporte mayores beneficios: es decir, el agricultor es un empresario que intenta maximizar la rentabilidad que puede obtener

de sus parcelas, consideradas, y tal vez no sólo metafóricamente, como verdaderas fábricas de producción.

Y en una actividad empresarial, con independencia de otros muchos factores, existe una ley no escrita, un criterio básico conservador, en cuanto a minimización de riesgos de pérdida de rentabilidad: si soy capaz de producir del cultivo “a” una determinada cantidad “n”, considerando unos gastos “x”, y luego soy capaz de venderlo a un precio “i”, tan sólo tenderé a sustituirlo total o parcialmente por un nuevo cultivo “b” si la producción “m” a unos gastos “y” que sea capaz de producir de él consigo venderla a un precio “j”, de forma que se cumpla:  $(m*j)-y > (n*i)-x$ .

¿Así de sencillo? No, ciertamente. Se asume que este modelo expuesto en la línea anterior puede antojarse como demasiado simplista, y que obviamente no es el único criterio referente, ni tan siquiera considerado como estrictamente necesario, y mucho menos como suficiente, en el proceso de la toma de decisiones. Sin embargo, este sencillo modelo se enjuicia también como suficientemente reflexivo en cuanto a lo que de él se puede derivar utilizándolo como ecuación básica cuando se comparan distintos cultivos.

Es por tanto en él en el que nos apoyaremos en las interpretaciones prácticas de algunos de los resultados que puedan aportar los ensayos y análisis planteados en la presente tesis, comenzando por esta primera parte.

En esta primera parte, se ha perseguido explorar acerca de los indicios que evidencien ese posible interés justificativo para comenzar con investigaciones, estudios o planes prácticos orientados a mejorar los umbrales productivos de la lenteja. Es decir, nos planteamos una pregunta muy sencilla: ¿es razonable pensar que la lenteja es realmente, o puede llegar a serlo, si se le dedica el esfuerzo suficiente, un cultivo rentable en las zonas objetivo planteadas? Esta generalidad está matizada o enmarcada en esta tesis en dos cuestiones más específicas: ¿Un cambio agronómico como el adelanto de la fecha de siembra, estrategia exitosa en otros casos como se ha expuesto en la introducción, puede contribuir a que la respuesta a la cuestión sea afirmativa? Y

## *Resultados y Discusión*

¿una actividad orientada a la mejora genética de esta especie puede asimismo contribuir a ello por si misma, o en sinergia con la estrategia anterior?

Para esta primera aproximación, se ha explorado sobre la posible detección en dos poblaciones segregantes, representativas de dos fondos genéticos distintos, de genotipos superiores, en lo que a rendimiento se refiere, a las variedades comerciales representativas del material actualmente disponible para los agricultores. Y ello contemplando también bajo qué condicionantes esos materiales pueden resultar efectivamente superiores.

En concreto, tal y como se ha indicado en el capítulo de materiales y métodos, en esta primera parte se han considerado las poblaciones de RILs procedentes de Precoz x WA8649041 y de BGE016365 x ILL1918, y 11 variedades comerciales utilizadas como testigos. Los datos de partida para los análisis corresponden a seis de los ambientes descritos en materiales y métodos, dos correspondientes a la campaña 2006-2007 (ZP07 y ZI07) y cuatro correspondientes a la campaña 2007-2008 (PP08, PI08, ZP08 y ZI08).

En la Figura 10 se representan los resultados al respecto, considerando la globalidad de los ambientes de estudio, obtenidos por la aplicación del método de consistencia de comportamiento definido por Ketata y col. (1989) con las modificaciones propuestas en el capítulo de materiales y métodos. En las Figuras 12 y 13 se representan dichos resultados considerando por separado la información relativa a ambientes de siembra invernal y primaveral respectivamente.

Una manera sencilla de ver la expresión fenotípica en cuanto a comportamiento en rendimiento, considerando el conjunto de todos los ambientes (general), se presenta en la distribución de puntos de la Figura 10, donde los genotipos con mayor potencial productivo tenderán a presentar menores promedios de rangos, y los genotipos con mayor estabilidad tenderán a presentar menores valores en la desviación típica de sus rangos. Es decir, si lo que se pretende resolver es un problema de potencial de rendimiento y estabilidad del mismo, lo expuesto para la lenteja en el caso de Castilla y León, los genotipos más adecuados *a priori* serían aquellos que ocupasen la zona



inferior izquierda establecida por la gráfica y definida como de genotipos muy consistentemente superiores (inferior izquierda).

Pero antes de entrar en lo que esa zona realmente puede implicar, intentemos profundizar más en la información de la Figura 10 y la información adicional que nos proporcionan las Figuras 11 y 12.

Cada una de las gráficas está dividida en las 16 zonas definidas en Materiales y Métodos. Para facilitar la interpretación de las figuras, además de la identificación de los parentales de las poblaciones y de los testigos, se han señalado, a modo de ejemplo, cuatro genotipos de cada población (señalados con rectángulos azules y rojos) para ver su comportamiento en cada grupo de ambientes considerado.

Asimismo, como apoyo, se presentan las Tablas 17, 18 y 19 donde se aporta información de los tipos de materiales incluidos en cada una de las 16 zonas establecidas para el global de los ambientes, los ambientes de siembra invernal y los de siembra primaveral respectivamente.

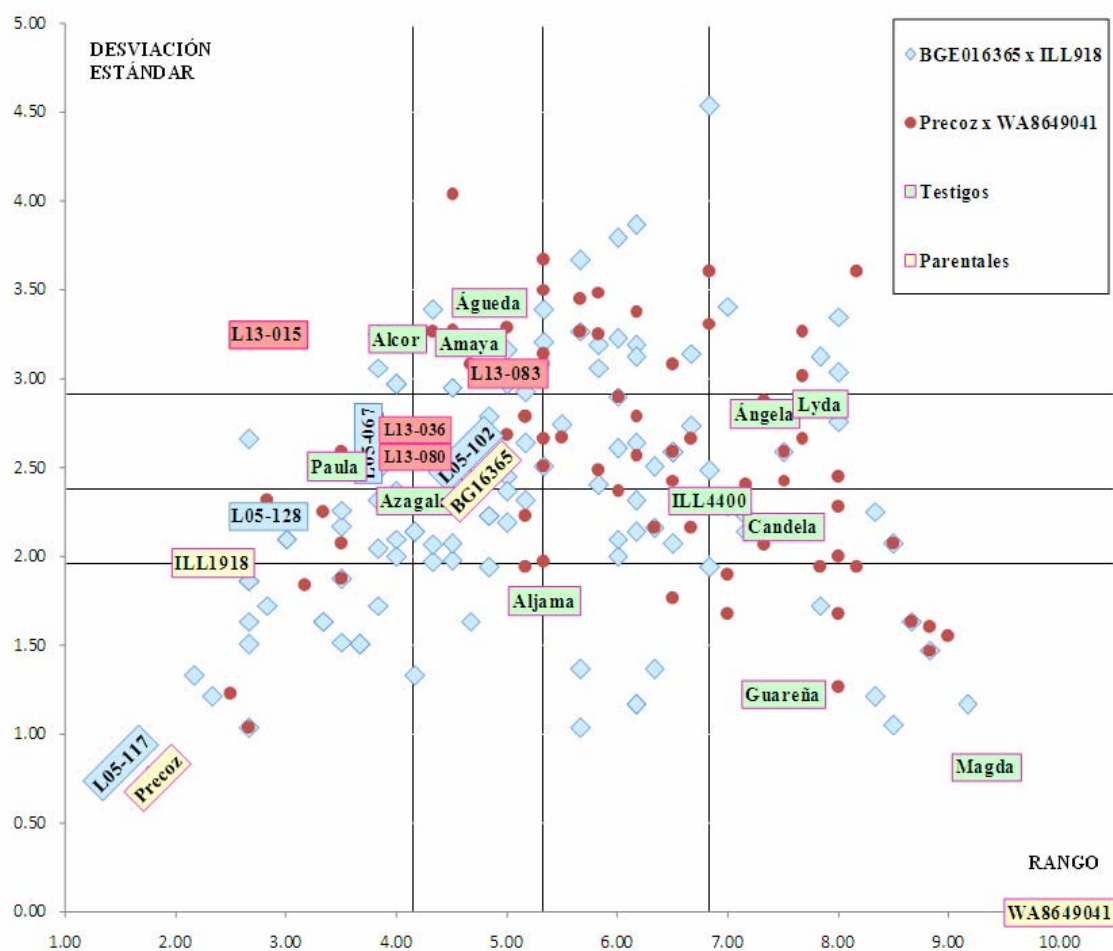
Hay que considerar que la información que proporciona la Figura 10, no es válida para ser aplicada en un ambiente particular, pues proporciona información general obtenida a partir del conjunto de todos los ambientes particulares estudiados, por lo que el comportamiento de los genotipos dentro de cada ambiente particular puede variar respecto a la situación general expuesta en la Figura 10 y Tabla 17, debido a las peculiaridades propias de ese ambiente. Por ello, para ser más explícitos, se ha dividido el conjunto de todos los ambientes en función de la fecha de siembra, considerando por un lado los ambientes de fecha de siembra invernal (Figura 11, Tabla 18), y en ambientes de fecha de siembra primaveral (Figura 12, Tabla 19), lo que permite obtener información de cómo varía el comportamiento de los genotipos en función de la fecha de siembra.

En el conjunto de todos los ambientes no ha habido testigos que se hayan situado en la zona de mayor rendimiento y estabilidad (muy consistentemente superior). Los testigos que mejor rendimiento han obtenido han sido Paula, Alcor y Azagala, si bien

## Resultados y Discusión

Alcor, a pesar de ser el segundo testigo con mayor rendimiento, ha presentado muy poca estabilidad en el rendimiento, al situarse en la franja “muy inconsistentemente”. El resto de testigos se han situado en regiones, más bien alejadas de la región “muy consistentemente superior” (Figura 10, Tabla 17).

FIGURA 10: Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando todos los ambientes.



En cambio, el comportamiento de las poblaciones de lenteja difiere al de los testigos, en la zona muy consistentemente superior sí que hay genotipos de ambas poblaciones. Así, el número de líneas pertenecientes a la población BGE016365 x ILL1918 supera a las líneas pertenecientes a la población Precoz x WA8649041, 17 sobre cinco líneas.

TABLA 17: Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de todos los ambientes.

ESTABILIDAD (desviación estándar)		RANGO							
		Superior		Alto		Bajo		Inferior	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Muy consistentemente	Par	1	25,00	0	0,00	0	0,00	1	25,00
	Tes	0	0,00	1	8,33	0	0,00	2	16,67
	PxW	5	5,62	1	1,12	1	1,12	14	15,73
	BxI	17	14,41	2	1,69	6	5,08	6	5,08
	Tot	23	10,31	4	1,79	7	3,14	23	10,31
Consistentemente	Par	1	25,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	1	8,33	0	0,00	1	8,33	1	8,33
	PxW	4	4,49	2	2,25	3	3,37	5	5,62
	BxI	14	11,86	9	7,63	8	6,78	5	4,24
	Tot	20	8,97	11	4,93	12	5,38	11	4,93
Inconsistentemente	Par	0	0,00	1	25,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	1	8,33	0	0,00	0	0,00	2	16,67
	PxW	5	5,62	8	8,99	9	10,11	7	7,87
	BxI	4	3,39	8	6,78	9	7,63	2	1,69
	Tot	10	4,48	17	7,62	18	8,07	11	4,93
Muy inconsistentemente	Par	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	1	8,33	2	16,67	0	0,00	0	0,00
	PxW	1	1,12	12	13,48	8	8,99	4	4,49
	BxI	4	3,39	9	7,63	11	9,32	4	3,39
	Tot	6	2,69	23	10,31	19	8,52	8	3,59

Par: parentales, Tes: testigos, PxW: población Precoz x WA8649041, BxI: población BGE016365 x ILL1918. Tot: total.

Precoz ha sido el único parental que se ha clasificado en esta zona, si bien el parental ILL1918 está en el límite de la misma, aunque no se ha incluido ya que se ha seguido un criterio conservador para estos casos. Se aprecia que ambas poblaciones tienen uno de los parentales situados en la zona muy consistentemente superior. El parental BGE016365 ha resultado ser inconsistentemente alto y el parental WA8649041 ha sido muy consistentemente inferior.

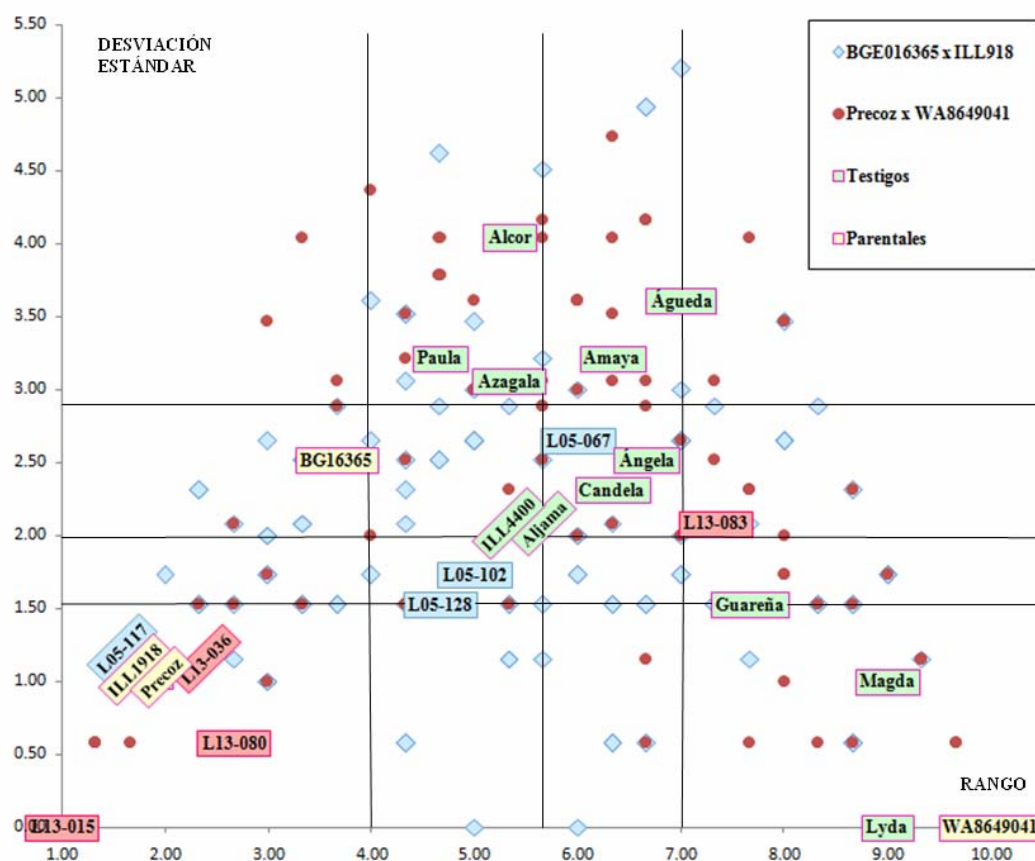
Las líneas de la población Precoz x WA8649041 tienden a distribuirse hacia la mitad superior de los rangos (zonas de rango bajo e inferior), mientras que la población BGE016365 x ILL1918 muestra una distribución más homogénea en toda la gráfica. En cuanto a la distribución general de los testigos, ninguno de ellos se ha situado en el

## Resultados y Discusión

cuadrante muy consistentemente superior mientras que han tendido a distribuirse hacia las zonas de rango bajo en inferior.

En función de estos resultados, para el conjunto de todos los ambientes ensayados, se aprecia en la Figura 10 y Tabla 17, que hay materiales pertenecientes a ambas poblaciones que superan a los testigos empleados (variedades actuales), por consiguiente, hay un potencial por explotar en estas poblaciones cara a la obtención de variedades que superen a las actuales en cuanto a rendimiento y estabilidad.

FIGURA 11: Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando el conjunto de los ambientes de fecha de siembra invernal.



Del mismo modo si nos ceñimos al conjunto de todos los ambientes de invierno (Figura 11, Tabla 18), a primera vista se observa una mayor dispersión de los genotipos respecto al conjunto de todos los ambientes. En la zona muy consistentemente superior

se localizan dos parentales, que son los mismos que al considerar el conjunto de todos los ambientes, estando por tanto bien adaptados también a los ambientes invernales. También se localizan mayor número de líneas de la población Precoz x WA8649041, en comparación con el conjunto de todos los ambientes, de cinco a 11 líneas, mientras que para la población BGE016365 x ILL1918, el número de líneas disminuye cuando se compara con el conjunto de todos los ambientes, pasando de 17 a 10 líneas.

TABLA 18: Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de ambientes de fecha de siembra invernal.

ESTABILIDAD (desviación estándar)		RANGO							
		Superior		Alto		Bajo		Inferior	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Muy consistentemente	Par	2	50,00	0	0,00	0	0,00	1	25,00
	Tes	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	16,67
	PxW	11	12,36	0	0,00	2	2,25	11	12,36
	BxI	10	8,47	6	5,08	4	3,39	5	4,24
	Tot	23	10,31	6	2,69	6	2,69	19	8,52
Consistentemente	Par	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	8,33
	PxW	5	5,62	3	3,37	2	2,25	6	6,74
	BxI	13	11,02	7	5,93	11	9,32	10	8,47
	Tot	18	8,07	10	4,48	13	5,83	17	7,62
Inconsistentemente	Par	1	25,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	0	0,00	2	16,67	2	16,67	0	0,00
	PxW	2	2,25	5	5,62	5	5,62	6	6,74
	BxI	10	8,47	12	10,17	6	5,08	7	5,93
	Tot	13	5,83	19	8,52	13	5,83	13	5,83
Muy inconsistentemente	Par	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	0	0,00	3	25,00	2	16,67	0	0,00
	PxW	4	4,49	11	12,36	12	13,48	4	4,49
	BxI	1	0,85	10	8,47	5	4,24	1	0,85
	Tot	5	2,24	24	10,76	19	8,52	5	2,24

Par: parentales, Tes: testigos, PxW: población Precoz x WA8649041, BxI: población BGE016365 x ILL1918. Tot: total.

El comportamiento de la población Precoz x WA8649041 cambia la considerar los ambientes exclusivamente invernales, los genotipos 15, 36 y 80 han pasado a estar en la zona muy consistentemente superior cuando en el conjunto de todos los ambientes se situaban en las zonas menor consistencia y de rendimiento superior. En la población BGE016365 x ILL1918, la situación no ha cambiado tanto como en la otra población.

## *Resultados y Discusión*

La dispersión de los testigos al considerar ahora los ambientes invernales muestran que ningún testigo se ha situado en la zona muy consistentemente superior y ningún testigo se ha situado en la franja de rango superior independientemente de su estabilidad. Magda y Guareña han sido las variedades que han mostrado una estabilidad muy consistente, al igual que en conjunto de todos los ambientes.

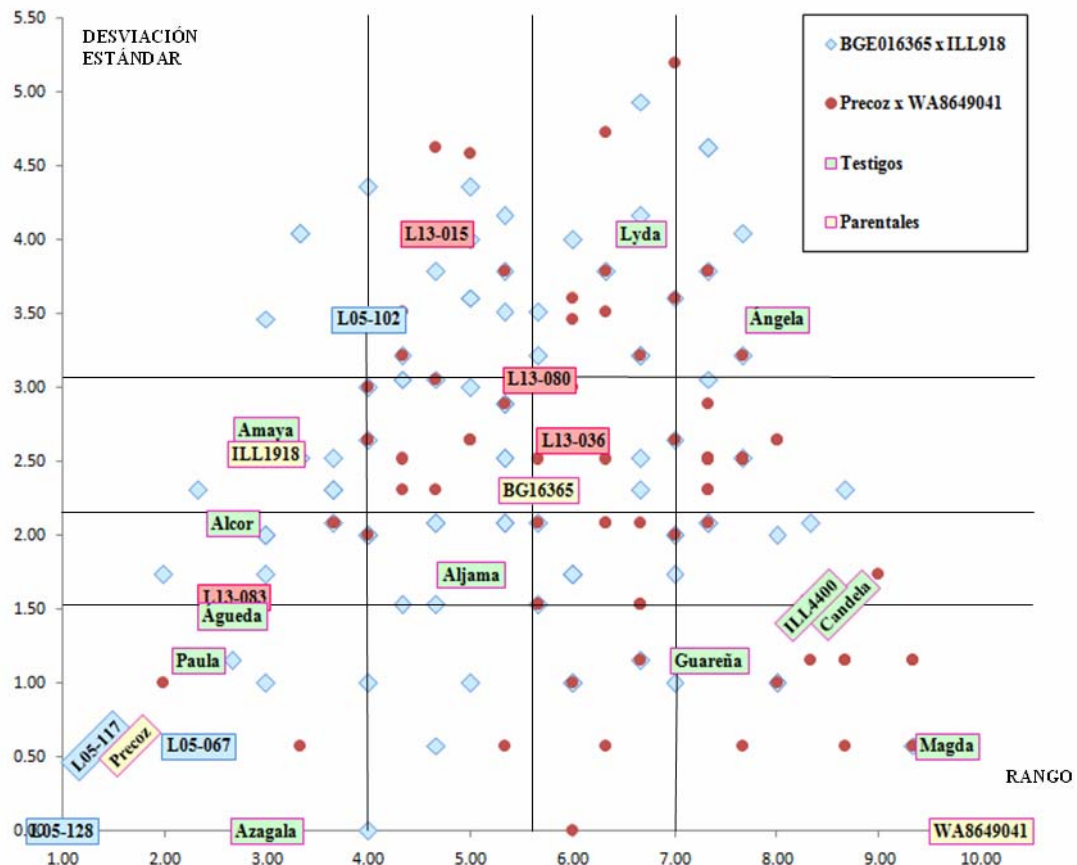
Para el conjunto de los ambientes primaverales (Figura 12, Tabla 19), en la zona que presenta un mayor interés (muy consistentemente superior), se puede ver una situación diferente a las anteriores. Así, el único parental que ha permanecido en esta zona ha sido Precoz, mientras que el parental ILL1918 se ha comportado de manera menos estable (inconsistentemente superior). Además continua habiendo líneas presentes en esta zona, si bien en menor número para la población Precoz x WA8649041 y en mayor número para la población BGE016365 x ILL1918, al compararlo con los ambientes invernales. Las líneas 67 y 128 de esta última población, quedan incluidas, junto con la línea 117, en la zona muy consistentemente superior, mientras que en los ambientes invernales tan solo se situaba en esta zona la 117. Situación contraria ha ocurrido en la población Precoz x WA8649041, que en los ambientes invernales se situaban en la mejor zona las líneas 15, 36 y 80, y en los primaverales ninguna de ellas ha quedado situada en la zona muy consistentemente superior.

El comportamiento de los testigos ha cambiado respecto a los otros conjuntos de ambientes, destacando las variedades Paula, Águeda y Azagala, con un comportamiento muy consistentemente superior, se muestran entre los mejores materiales en los ambientes de primavera. En general, el conjunto de todos los testigos muestran mayor dispersión que en los otros conjuntos de ambientes, donde en el cuadrante de menor rango y menor desviación estándar (inferior izquierdo) se situaban muy pocos testigos, lo que no ocurre en los ambientes primaverales, lo que es indicativo de que las variedades comerciales están orientadas a siembras primaverales.

A pesar del buen comportamiento de los testigos en los ambientes primaverales, sigue habiendo líneas que han mostrado un comportamiento tan bueno como los

mejores, que hace que resulte interesante como para incluirlas en planes de mejora cara a obtener variedades de lenteja adaptadas a la siembra primaveral.

FIGURA 12: Promedio de los rangos de cada genotipo en función de las desviaciones típicas de dichos rangos considerando el conjunto de los ambientes de fecha de siembra primaveral.



Como se ha visto a lo largo de este capítulo, en función de los resultados obtenidos, para cualquiera de los tres conjuntos de ambientes hay líneas que han tenido un comportamiento muy consistentemente superior, por encima de los testigos empleados, que son susceptibles de ser consideradas en un plan de mejora para la obtención de nuevas variedades orientadas a fechas de siembra primaveral o a fechas de siembra invernal, que superen a las actuales en cuanto a rendimiento y estabilidad.

## Resultados y Discusión

TABLA 19: Clasificación de los genotipos en función del rango y estabilidad considerando el conjunto de ambientes de fecha de siembra primaveral.

ESTABILIDAD (desviación estándar)		RANGO							
		Superior		Alto		Bajo		Inferior	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Muy consistentemente	Par	1	25,00	0	0,00	0	0,00	1	25,00
	Tes	3	25,00	0	0,00	0	0,00	4	33,33
	PxW	5	5,62	1	1,12	9	10,11	15	16,85
	BxI	14	11,86	4	3,39	5	4,24	5	4,24
	Tot	23	10,31	5	2,24	14	6,28	25	11,21
Consistentemente	Par	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	1	8,33	1	8,33	0	0,00	0	0,00
	PxW	2	2,25	0	0,00	5	5,62	2	2,25
	BxI	13	11,02	9	7,63	7	5,93	4	3,39
	Tot	16	7,17	10	4,48	12	5,38	6	2,69
Inconsistentemente	Par	1	25,00	0	0,00	1	25,00	0	0,00
	Tes	1	8,33	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	PxW	5	5,62	8	8,99	8	8,99	10	11,24
	BxI	9	7,63	9	7,63	6	5,08	3	2,54
	Tot	16	7,17	17	7,62	15	6,73	13	5,83
Muy inconsistentemente	Par	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Tes	0	0,00	0	0,00	1	8,33	1	8,33
	PxW	1	1,12	6	6,74	8	8,99	4	4,49
	BxI	5	4,24	10	8,47	10	8,47	5	4,24
	Tot	6	2,69	16	7,17	19	8,52	10	4,48

Par: parentales, Tes: testigos, PxW: población Precoz x WA8649041, BxI: población BGE016365 x ILL1918. Tot: total.

Para ver el interés del cambio de la fecha de siembra, se ha comparando el rendimiento de los mismos genotipos sembrados en primera y sembrados en invierno. Así, el adelanto de la fecha de siembra de primavera a otoño ha supuesto un aumento del rendimiento del 58,33 % considerando ambas poblaciones, un aumento del rendimiento del 46,25% para la población BGE016365 x ILL1918, y un aumento del 77,65% para la población Precoz x WA8649041. Para las variedades comerciales (testigos) se ha producido un aumento del 7,01% (Tabla 20).

Análogamente, considerando sólo los mejores genotipos (muy consistentemente superiores) se han producido aumentos del 46,25 % para la población BGE016365 x ILL1918 y aumentos del 105,76 % para la población Precoz x WA8649041, en cambio para las variedades comerciales se han producido aumentos del 11,12 %, lo que viene a



corroborar los resultados obtenidos en la clasificación de los genotipos por su rendimiento y estabilidad: las variedades actuales están orientadas a siembras primaverales, y el empleo de éstas en fechas de siembras tempranas tiene un menor interés respecto a las poblaciones estudiadas.

TABLA 20: Rendimientos medios e incrementos de rendimientos obtenidos (tm/ha).

	<b>GENERAL</b>	<b>INVIERNO</b>	<b>PRIMAVERA</b>
<b>POBLACIÓN COMPLETA:</b>			
Media RILs General	1,24	1,52 (58,33%)	0,96
Media RILs BxI	1,29	1,53(46,25%)	1,05
Media RILs PxW	1,18	1,51(77,65%)	0,85
Testigos	1,10	1,17 (7,01%)	1,03
<b>RILs SELECCIONADAS:</b>			
Media RILs General	1,91	2,61(69,48%)	1,54
Media RILs BxI	1,86	2,34 (46,25%)	1,60
Media RILs PxW	2,08	2,86 (105,76%)	1,39
Testigos	1,44	1,60 (11,11%)	1,44
<b>% INCREMENTO POR MEJORA RESPECTO DE LOS TRES MEJORES TESTIGOS:</b>			
Media RILs General	32,51	63,22	7,01
Media RILs BxI	28,91	46,33	11,18
Media RILs PxW	44,00	78,85	-3,41
Testigos	0,00	0,00	0,00
<b>% INCREMENTO CONJUNTO POR MEJORA Y CAMBIO DE FECHA DE SIEMBRA RESPECTO DE LOS TRES MEJORES TESTIGOS EN PRIMAVERA:</b>			
Media RILs General	32,86	81,36	7,01
Media RILs BxI	29,25	62,60	11,18
Media RILs PxW	44,37	98,73	-3,41
Testigos	0,26	11,12	0,00

General: se refiere a ambas poblaciones, BxI: población BGE016365 x ILL1918; PxW: población Precoz x WA8649041.

Las cifras entre paréntesis indican los porcentajes de aumento de rendimiento debidos al adelanto de la fecha de siembra.

Estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos por numerosos autores como Siddique y col. (1998) o Chen y col. (2006), que en zonas de clima mediterráneo en Australia, observaron importantes aumentos de rendimiento, como ya se ha comentado en la introducción. En países como Turquía, el adelanto de la fecha de siembra ha supuesto aumentos del rendimiento del 50% (Sakar y col. 1998), y en Italia Fagnano y col. (1998) observaron aumentos que multiplicaron por siete los

## *Resultados y Discusión*

rendimientos, si bien compararon con siembras primaverales demasiado tardías que se tradujeron en rendimientos muy bajos.

Para estudiar un poco más el interés de la mejora genética en la lenteja, en la Tabla 20, se muestran los aumentos medios de rendimiento debidos a la mejora en los tres conjuntos de ambientes y para cada grupo de genotipos, medidos como porcentaje de incremento respecto de los tres mejores testigos. Considerando los mejores genotipos de ambas poblaciones, han mostrado aumentos de rendimiento del 7,01% cuando se siembran en primavera, en cambio, simplemente adelantando la fecha de siembra, con esos mismos genotipos se producen aumentos del rendimiento del 63,22%. Si consideramos cada población por separado, el comportamiento de ambas es algo diferente, ya que siguen produciendo aumentos del rendimiento al cambiar de fecha de siembra pero con distinto valor, 78,85% de aumento para la población Precoz x WA8649041 frente al 46,33% para la población BGE016365 x ILL1918. Llama la atención, al considerar sólo los ambientes de primavera, donde se producen aumentos muy suaves en la población BGE016365 x ILL1918 (11,17%), mientras que en la población Precoz x WA8649041, hay disminuciones del 3,41% del rendimiento al comparar las mejores líneas de dicha población con los tres mejores testigos. Esto está en concordancia con los resultados obtenidos en el estudio del rendimiento y estabilidad, donde la población BGE016365 x ILL1918 parece que se comporta mejor que la población Precoz x WA8649041 en siembras primaverales, mostrando ésta última una orientación hacia los ambientes invernales.

Para reflejar una situación más real, hay que considerar que el agricultor suele realizar generalmente siembras primaverales, por ello resulta interesante el comparar los rendimientos obtenidos con las mejores líneas, cualquiera que sea la fecha de siembra, con los rendimientos obtenidos con las mejores variedades en primavera, suponiendo, por tanto que el agricultor sabe elegir las mejores variedades a sembrar. Como se ve en la Tabla 20, los rendimientos en los ambientes de invierno son los mayores, llegando hasta aumentos del casi el 100% (98,73% para la población Precoz x WA8649041), siendo los menores aumentos los que corresponden a la población BGE016365 x ILL1918, 62,6%, excluyendo a los propios testigos, ya comentados anteriormente.

Si consideramos el rendimiento medio en primavera obtenido por los testigos (1,03 tm/ha) frente al rendimiento obtenido por las mejores líneas de las poblaciones estudiadas en siembras invernales (2,86 tm/ha para la población Precoz x WA8649041) se obtiene un rendimiento del 177,67%, debido al adelanto de la fecha de siembra y a la disponibilidad de variedades más competitivas orientadas a la realización de siembras invernales.

En resumen, con los valores mostrados relativos a los incrementos de rendimiento tanto por el cambio de la fecha de siembra como por la selección de genotipos, resulta cuando menos interesante el considerar estas estrategias de aumento de rendimiento para que la lenteja se convierta en un cultivo que atraiga la atención al agricultor y contribuir a la disminución de las importaciones de lenteja que demanda el mercado español. En otros países del Centro y Oeste de Asia, y en el Norte de África, se están realizando trabajos de selección y mejora con el fin de obtener variedades de mayor rendimiento y adaptadas a fechas de siembra temprana (Sarker y col. 2004).

La realización de un análisis económico permite ver el interés del adelanto de la fecha de siembra y el interés de la mejora desde el punto de vista que más interesa al agricultor, cuánta rentabilidad obtiene por cultivar lentejas en comparación con la cebada.

En la Tabla 21, se refleja el análisis económico donde se compara el beneficio de los tres cultivos tipo con la lenteja. Se ha considerado un sistema de cultivo en agricultura convencional y condiciones de secano.

Para las producciones se ha considerado que la lenteja produce el 23 % de lo que produce la cebada, en función de las producciones medias de ambos cultivos en Castilla y León entre los años 2000 y 2010, según los boletines de información agraria de la Junta de Castilla y León. En el caso de la mejora, se ha considerado que el aumento de medio de rendimiento debido a la selección y al adelanto de la fecha de siembra es del 81%.

## Resultados y Discusión

TABLA 21: Comparación de los beneficios obtenidos en cebada y lenteja para distintos niveles de producción.

Producción (kg/ha)			Ingresos (€/ha)			Beneficios (€/ha)		
CEBADA	LENTEJA	MEJORA	CEBADA	LENTEJA	MEJORA	CEBADA	LENTEJA	MEJORA
1000	232,14	421,02	135,90	107,15	194,34	-329,53	-330,07	-242,88
2000	464,29	842,03	271,81	214,31	388,67	-193,62	-222,91	-48,55
3000	696,43	1263,05	407,71	321,46	583,01	-57,72	-115,76	145,79
4000	928,57	1684,07	543,61	428,62	777,34	78,18	-8,60	340,12
5000	1160,71	2105,08	679,52	535,77	971,68	214,09	98,55	534,46
6000	1392,86	2526,10	815,42	642,92	1166,01	349,99	205,70	728,79
7000	1625,00	2947,12	951,32	750,08	1360,35	485,89	312,86	923,13

En los gastos de cultivo se han incluido los insumos (semilla, combustible, fitosanitarios y fertilizantes) y las labores de cultivo (preparación del terreno, aplicación de fitosanitarios, aplicación de fertilizantes, y cosecha).

Para el cálculo de los ingresos se ha considerado el precio medio de la cebada percibido por el agricultor durante los años 2000 al 2010, según el Anuario de Estadística Agraria del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. En el caso de la lenteja se ha considerado el precio medio de las importaciones durante esos mismos años según datos de la FAO. No se han considerado los ingresos debidos a ayudas y subvenciones, dado que cualquier cambio en la política de ayudas puede cambiar de manera importante el beneficio de un cultivo independientemente de la variedad que se cultive o sistema de cultivo adoptado.

La Tabla 21 se muestra el umbral de rendimiento de la lenteja en comparación con la cebada, en la situación actual y en la hipotética situación que se emplee lenteja que ha sufrido un proceso de mejora y selección, y además, se haya realizado una siembra invernal. Se aprecia, como ya se dijo en la introducción, las pérdidas que se obtienen con el cultivo de la lenteja, comenzando a obtener beneficios positivos con 1.160,71 kg/ha (el equivalente a producir 5.000 kg/ha en cebada), mientras que la cebada con 4.000 kg/ha ya da beneficios positivos. Esto corrobora, al menos en parte, el por qué la superficie de lenteja cultivada es tan escasa en comparación con los otros cultivos, al ser la situación actual de siembras primaverales y con las variedades actuales que dispone el agricultor.

En cambio, esta situación cambia si consideramos por un lado el adelanto de la fecha de siembra, y por otro lado, la elección de material seleccionado. En función de los resultados obtenidos en los ensayos, al comparar líneas que han tenido un mejor comportamiento en siembras invernales respecto de las tres mejores variedades sembradas en primavera, han supuesto un aumento medio del rendimiento del 81%. Por consiguiente, el nuevo balance económico refleja que se comienzan a obtener beneficios positivos (145,79 €/ha) con producciones de lenteja de 1.263,05 kg/ha, lo que equivale a producciones de cebada de 3.000kg/ha, que dan unos beneficios de -57,62 €/ha.

Para igualar los beneficios de la cebada, la lenteja debería producir el 27% de lo que produce la cebada, de tal forma que el aumento mínimo de rendimiento que debería tener la lenteja debido a los trabajos de selección y debido al adelanto de la fecha de siembra, sería del 18 %. Este porcentaje no supone un reto imposible ya que como se acaba de explicar se han obtenido aumentos de rendimiento del 81%. Por consiguiente, estos umbrales de aumento de rendimiento han sido claramente superados, estando justificado el interés del adelanto de la fecha de siembra, como estrategia de aumento del rendimiento, y el interés de la mejora genética de la lenteja, con el fin de proporcionar al agricultor variedades adaptadas a las condiciones de siembra invernal que produzcan altos rendimientos y de una manera estable.

#### **4.1.2.- ANÁLISIS DE VARIANZA GENERAL**

Previo a todos los análisis de varianza del presente estudio se ha realizado la prueba de Levene de homogeneidad de varianzas del error comprobándose asimismo la hipótesis de normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk. Los resultados, no incluidos en el presente documento, indicaron que los residuos para el modelo general y para cada ambiente particular cumplían con los requisitos de homogeneidad de varianzas y de normalidad.

Los resultados del modelo (1), expuesto en el capítulo de Materiales y Métodos, figuran en la Tabla 22, mostrando que el modelo explica el 97,7 % de la variabilidad total detectada, resultando el coeficiente de variación asociado al error de 14,45 %.

## Resultados y Discusión

TABLA 22: Análisis de varianza general para el carácter rendimiento (REN en tm/ha).

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	Pr	R <sup>2</sup> (%)	
<b>Total</b>	2135	2789,67					
<b>Modelo</b>	727	2725,62	3,75	82,42	<,0001	97,70	i
<b>AMBIENTE</b>	7	612,32	87,47	35,46	<,0001	22,47	ii
<b>REP(AMBIENTE)</b>	16	0,88	0,05	1,20	0,2563	0,03	ii
<b>GENOTIPO</b>	88	598,64	6,80	2,77	<,0001	21,96	ii
<b>GENOTIPO*AMBIENTE</b>	616	1513,78	2,46	54,02	<,0001	55,54	ii
<b>Error</b>	1408	64,05	0,05			2,30	i

R <sup>2</sup>	CV	CME	REN
0,97704	14,46911	0,213285	1,474068

gl, grados de libertad; SC, Suma de cuadrados; CM, cuadrados medios; P, probabilidad de que  $F > 1$ ; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación parcial, i: respecto del total, ii: respecto del modelo; REP, repetición; CV, coeficiente de variación; CME, desviación típica del error; REN: rendimiento medio general.

En cuanto a las fuentes de variación incluidas en el modelo, todas ellas resultaron significativas, salvo el efecto Bloque, siendo la interacción GxE el factor con mayor importancia al explicar un 55,54% de la variabilidad detectada por el modelo. El factor Ambiente ha explicado el 22,46 % de la variabilidad, mientras que el efecto del Genotipo ha representado el 21,96 %.

Romagosa y Fox (1993), y Romagosa y col. (2008), estiman en general que, para este tipo de ensayos, las proporciones aproximadas suelen ser del 70% para el efecto ambiental, el 10% para el genotípico y el 20% para la interacción. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo están en concordancia con Gauch y Zobel (1997), quienes estimaron que la proporción de la interacción GxE varía entre el 40 y el 60%, dependiendo de la diversidad tanto en genotipos como en ambientes incluidos en el ensayo. Así, por ejemplo, Dehghani y col. (2008), obtuvieron un coeficiente de determinación parcial del 45,9 % para la interacción GxE y un 51,5 % para el efecto ambiental, ensayando 11 genotipos de lenteja en 20 ambientes en Irán.

**4.1.3.- SEGUNDA APROXIMACIÓN AL INTERÉS DE LA LENTEJA:  
INFLUENCIA DEL ADELANTO DE LA FECHA DE SIEMBRA SOBRE  
EL RENDIMIENTO**

La Tabla 23, muestra la prueba de Tukey para comparación múltiple de medias de los diversos ambientes. Una aclaración importante antes de presentar los resultados se refiere al elevado coeficiente de determinación parcial que representa en el modelo la interacción GxE (55,54 %), lo cual debe ser considerado al realizar la prueba de Tukey, por lo que ésta se ha realizado considerando el cuadrado medio de la interacción GxE como término de error para el establecimiento de posibles diferencias entre ambientes.

TABLA 23: Prueba de Tukey para la comparación múltiple de las medias de rendimiento (tm/ha).

AGRUPAMIENTO DE TUKEY (P < 0,05)	MEDIA	N	AMBIENTE
A	2,3427	267	ZI08
A			
B	1,9734	267	PI08
B			
B	C	1,669	ZP08
B	C		
B	C	1,6628	ZI06
	C		
D	C	1,5177	ZI07
D			
D		1,1799	PP08
E	0,7435	267	ZP07
E			
E	0,7035	267	ZP06

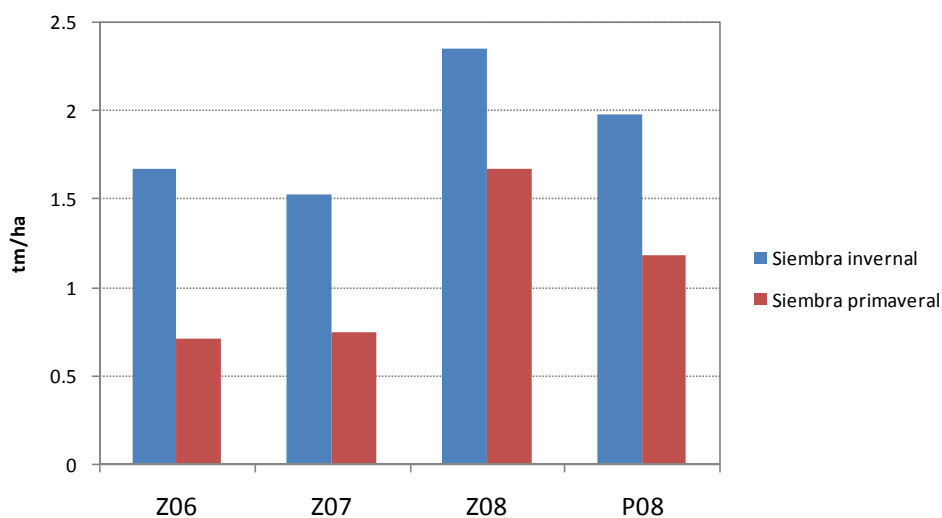
N: número de observaciones; ZP: Zamadueñas Primavera. ZI: Zamadueñas Invierno. PP: Peñaflo Primavera. PI: Peñaflo Invierno. Las cifras hacen referencia al año agrícola, 2006, 2007 y 2008.

La primera observación de los resultados, mostrados en la Tabla 23, es que los ambientes caracterizados por la fecha de siembra invernal tienden a situarse en la parte superior de la tabla (mayores rendimientos), y en la parte inferior, los de siembra primaveral, con la excepción, del ambiente ZP08 (Zamadueñas Primavera 2008) que se intercala entre los ambientes de invierno.

## Resultados y Discusión

Esta tendencia global de aparente mayor rendimiento en la siembra invernal respecto a la primaveral se confirma cuando se compara caso a caso cada combinación de localidad y año, representado asimismo de forma gráfica en la Figura 13. Para todas ellas la prueba de Tukey ha declarado diferencias significativas entre ambas fechas de siembra, siendo la siembra invernal siempre más productiva. La significatividad detectada, al haber utilizado como término de error en la prueba el cuadrado medio de GxE, permite definir que esta superioridad en la fecha de siembra invernal puede ser considerada para la totalidad de los genotipos evaluados. Esto se refuerza en el hecho de que, si bien en la Tabla 23 se han presentado los resultados considerando una probabilidad de 0,05, el valor real de probabilidad asociado a cada comparación entre fechas para cada combinación localidad y año fue en todos los casos definido como menor de 0,0001 (datos no presentados).

FIGURA 13: Rendimiento medio en lenteja (tm/ha) para los distintos ambientes ensayados.



Así, en la localidad de Zamadueñas en la campaña 2005/06 el rendimiento aumentó una media del 105% por el mero hecho de adelantar la fecha de siembra. En la misma localidad para la campaña 2006/07, el aumento medio fue del 138% y en la última campaña se obtuvieron aumentos del 41%. En el caso de la localidad de Peñafior en la campaña 2007/08 el valor obtenido fue de un incremento del 67%. El valor medio



definido para el conjunto de ambientes es de un incremento del rendimiento del 87% por el hecho de adelantar la fecha de siembra. Es decir, el adelanto en la fecha de siembra supone el prácticamente duplicar los valores medios definidos en las siembras primaverales.

De esta forma, los resultados aquí obtenidos parecen justificar el interés general del adelanto de la fecha de siembra como estrategia de aumento de rendimiento en lenteja. Esto está en concordancia con lo definido por otros autores en el caso de la lenteja para otros países como Turquía, Estados Unidos, Irán, Afganistán y Pakistán (Erskine y col. 1981, Kusmenoglu y Aydin 1995, Hamdi y col. 1996, Muehlbauer y McPhee 2002, Sarker y col. 2009), donde, al igual que en este trabajo, el adelanto de la fecha de siembra se justifica como una eficaz técnica agronómica de mejora del rendimiento en el caso de la lenteja.

#### **4.1.4.- ANÁLISIS DE VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA**

En la Tabla 24 se puede apreciar que la diferencia entre fechas de siembra constituye la principal fuente de variación dentro de la componente ambiente inicial, explicando el 55,84% del efecto ambiental. El resto de las diferencias ambientales se explican por las diferencias dentro de los ambientes caracterizados por la siembra primaveral (26,68%), mientras que las diferencias entre los ambientes de siembra invernal explican el 17,49%. Es decir, se han detectado mayores diferencias entre los ambientes de primavera que entre los de invierno cuando se considera el conjunto de todos los genotipos.

Por otra parte, al descomponer la interacción GxE, todos sus componentes han resultado ser significativas. La interacción entre genotipo con el factor fecha de siembra ha explicado un 24,30% del total de la interacción. En este caso, el mayor coeficiente de determinación parcial se ha detectado para la interacción cuando sólo se consideran los ambientes invernales (61,43%), mientras que cuando se consideran los ambientes primaverales el coeficiente desciende al 14,27%. Esto implica una tendencia en la

## Resultados y Discusión

expresión del rendimiento de los genotipos más estable dentro de los ambientes primaverales, que cuando se consideran los ambientes invernales.

TABLA 24: Análisis de la varianza del carácter rendimiento (tm/ha) para la descomposición de la variación ambiental y de la interacción GxE en función de la fecha de siembra.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	Pr	R <sup>2</sup> (%)	
<b>Total</b>	2135	2789,67					
<b>Modelo</b>	727	2725,62	3,75	82,42	<0,01	97,70	
AMBIENTE	7	612,32	87,47	35,46	<0,01	22,47	i
FECHA	1	341,9	341,90	7,59	<0,01	55,84	ii
AMBIENTE(INVI)	3	107,08	35,69	447,32	<0,01	17,49	ii
AMBIENTE(PRIM)	3	163,34	54,45	1825,27	<0,01	26,68	ii
REP(AMBIENTE)	16	0,88	0,05	1,20	0,27	0,03	i
GENOTIPO	88	598,64	6,80	2,77	<0,01	21,96	i
GENOTIPO*AMBIENTE	616	1513,78	2,46	54,02	<0,01	55,54	i
FECHA*GENOTIPO	88	367,82	4,18	1,93	<0,01	24,30	iii
AMBIENTE(INVI)*GENOTIPO	264	929,9	3,52	57,05	<0,01	61,43	iii
AMBIENTE(PRIM)*GENOTIPO	264	216,06	0,82	27,99	<0,01	14,27	iii
<b>Error</b>	1408	64,05	0,05			2,30	
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>CV</b>	<b>CME</b>	<b>REN</b>				
<b>0,97704</b>	14,46911	0,213285	1,474068				

gl, grados de libertad; SC, Suma de cuadrados; CM, cuadrados medios; P, probabilidad de que  $F > 1$ , R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación parcial, i: respecto del modelo, ii: respecto del ambiente, iii: respecto de la interacción; INVI, invierno; PRIM, primavera; REP, repetición; R, porcentaje de explicación del modelo; CV, coeficiente de variación; CME, desviación típica del error.

### 4.1.5.- ANÁLISIS AMMI

Con el fin de contribuir a explicar la componente de interacción GxE detectada y la importancia de cada una de las fuentes de variación en que se ha descompuesto en el apartado anterior en función de las fechas de siembra, se ha procedido a la aplicación del modelo de efectos principales aditivos y de interacción multiplicativa (AMMI, Additive Main Effects and Multiplicative Interaction) definido por Mandel (1971). Este método está considerado como efectivo e informativo ya que captura una gran proporción de la suma de cuadrados (SC) y es capaz de separar efectos principales y efectos de interacción (Gauch 1992), proporcionando una nueva información que puede ser utilizada para facilitar la posible interpretación agronómica y biológica de las

diferencias detectadas, relacionando la información de cada eje de interacción (IPCA) con la caracterización ambiental y/o genotípica con (Vargas y col. 1999, Voltás y col. 2002).

En la Tabla 25 aparecen los resultados definidos por el análisis AMMI considerando el conjunto de los ambientes. En ella se incluyen los grados de libertad, la suma de cuadrados, el cuadrado medio, la prueba F (Gollob 1968), su significatividad y el porcentaje de suma de cuadrados respecto a la interacción GxE definida en el análisis de varianza original, obtenidos para cada eje definido por el AMMI. En la Tabla 25 se ha incluido tan sólo la información obtenida en el modelo AMMI3. Al menos otros tres ejes más (hasta AMMI 6) fueron declarados como significativos por la prueba de Gollob (1968), No se ha incluido su información en la tabla puesto que, como se comenta en el párrafo siguiente, finalmente no fueron considerados para proseguir con el estudio.

TABLA 25: Análisis multiplicativo AMMI para el carácter rendimiento (tm/ha) considerando el conjunto de los ambientes.

<b>Fuente de variación</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F valor</b>	<b>Pr</b>	<b>R<sup>2</sup> (%)</b>
GENOTIPO*AMBIENTE	616	1513,78	2,46	54,02	<0,0001	55,54
AMMI1	94	589,42	6,27	137,84	<0,0001	38,94
AMMI2	92	381,91	4,15	91,26	<0,0001	25,23
AMMI3	90	194,25	2,16	47,45	<0,0001	12,83
residual G*E	340	348,2	1,02	22,51	<0,0001	23,00

gl, grados de libertad; SC, Suma de cuadrados; CM, cuadrados medios; Pr, probabilidad de que  $F > 1$ ; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación parcial respecto de la interacción genotipo x ambiente; AMMI<sub>n</sub>, eje principal n definido el AMMI; residual G\*E, residual de la interacción no explicado por el modelo AMMI considerado.

Hay que tener en cuenta que la prueba de significación propuesta por Gollob (1968) suele retener ejes de poca relevancia (Voltas y col, 2002). Para ayudar a fijar un número adecuado de términos multiplicativos (AMMI<sub>n</sub>) con los que continuar el estudio, Romagosa y col. (2008) proponen que el establecimiento final del número de términos bilineales a retener se realice en función de la determinación de aquellos que realmente expliquen un porcentaje mayor que el esperado de acuerdo a la suma de cuadrados de GxE. Este valor se calcula dividiendo el valor 100% por el mínimo del número de genotipos menos uno o del número de ambientes menos uno. En nuestro

## *Resultados y Discusión*

caso, con 89 genotipos en 8 ambientes, se retendrían aquellos ejes que, cada uno, explicara más de  $100\%/(8-1) = 14,23\%$  de la suma de cuadrados de GxE, valor que no cumple el eje AMMI3 que explica un porcentaje menor de la suma de cuadrados (12,83%), ni ninguno de los sucesivos que no se presentan en la Tabla 25.

De esta forma, el primer eje de componentes principales (IPCA1, Interaction Principal Component Axis) ha explicado el 38,94 % de la interacción con tan sólo el 15,26 % de los grados de libertad (94 gl), y el segundo, IPCA2, explica el 25,23 % con el 14,93% de los grados de libertad (92 gl). Por tanto el modelo AMMI finalmente seleccionado es el modelo AMMI2, que ha explicado el 64,17% de la variación definida por la interacción GxE con tan sólo el 30,19% de los grados de libertad representados en la interacción.

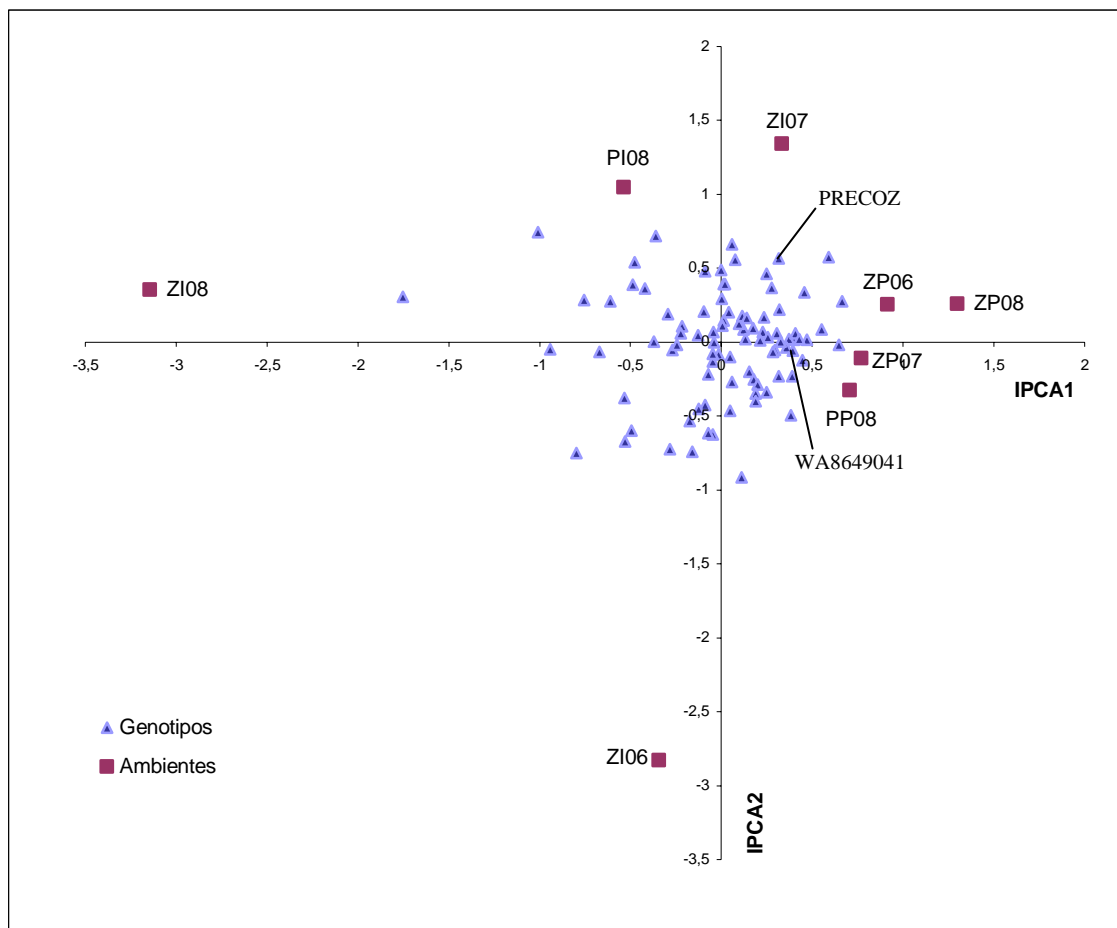
La elección de tan sólo dos ejes para continuar con los trabajos se sustenta también en el hecho de que, desde un punto de vista práctico, la literatura científica no aconseja la utilización de un número alto de ejes de explicación de la interacción, pues el interpretar un número mayor de ejes puede tornarse en una tarea compleja y, muchas veces ineficaz, demostrando la experiencia que, pese poder definirse significatividad en la variación explicada por ejes de rango alto, ésta puede ser realmente debida al ruido o al mero azar, tornándose no ya sólo difícil sino muchas veces irreal y arriesgado el tratar de buscar una interpretación agronómica o biológica a los resultados obtenidos (Gauch y Zobel, 1996). De hecho, en la presente tesis, cuando se consideró la información del tercer eje (datos no presentados) no se consiguió finalmente establecer ninguna relación entre el mismo con parámetros ambientales o genotípicos.

No se tiene constancia de otros estudios similares en los que se aplique la metodología AMMI en lenteja considerando poblaciones RIL, si bien Karimizadeh y Mohammadi (2010) definieron los cuatro primeros ejes AMMI con porcentaje de explicación del 68,32%, 13,95%, 10,04% y 5,36%, en un ensayo multiambiente en un estudio sobre 10 genotipos de lenteja en cinco ambientes.

A partir de los valores proyectados tanto para genotipos como para ambientes sobre los dos ejes definidos por el AMMI, IPCA1 frente a IPCA2 se genera la Figura 14, en la que se representa la interacción a través de dichas proyecciones.

En la Figura 14 se aprecia que el eje IPCA1 parece incluir, en primer lugar, información relativa a la adaptación a la fecha de siembra, de forma que los ambientes primaverales se sitúan siempre más a la derecha (valores mayores) que los ambientes invernales.

FIGURA 14: Componentes del primer eje factorial (IPCA1) frente al segundo (IPCA2) definidos por el AMMI2.



ZP: Zamadueñas Primavera. ZI: Zamadueñas Invierno. PP: Peñaflo Primavera. PI: Peñaflo Invierno. Las cifras hacen referencia al año agrícola, 2006, 2007, 2008.

Asimismo, se observa una notable mayor dispersión entre las proyecciones de los ambientes de invierno que entre los ambientes de primavera, lo que también se evidencia en las proyecciones sobre el eje IPCA2. En este último eje no parece existir

## *Resultados y Discusión*

una tendencia en las proyecciones dependiente de la fecha de siembra. En ninguno de los dos ejes parece existir tampoco ninguna relación que implique a las localidades o los años considerados. Esa distribución menos dispersa de los ambientes de primavera, frente a los ambientes invernales puede ser el indicativo de una mayor contribución de estos últimos en la interacción, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el análisis de la varianza (Tabla 24), en el que recordemos que la influencia en la interacción GxE se detectó en la componente relacionada con los ambientes de invierno (61,43%).

En cuanto al comportamiento de los parentales frente al eje IPCA1, se observa que curiosamente ambos ocupan una posición semejante. Teniendo en cuenta que como se acaba de comentar el eje IPCA1 guarda información relativa a la adaptación de la fecha de siembra, *a priori* se esperaría que el parental tolerante al frío (WA8649041) ocupara posiciones más cercanas a los ambientes de invierno y Precoz (parental susceptible) ocupara posiciones más cercanas a los ambientes de primavera, y por tanto, que ambos parentales ocuparan posiciones diferentes. Esto puede poner de manifiesto dos hechos: la primera, es que en la adaptación a la fecha de siembra no sólo puede influir la tolerancia a frío, habiendo más factores implicados en ella; y la segunda, es que puede que los ambientes invernales no hayan sido lo suficientemente “duros” como para diferenciar el comportamiento de ambos parentales frente a las dos fechas de siembras en cuanto a rendimiento. Ya se ha visto antes que el parental Precoz es uno de los genotipos que mejor rango tienen en cualquiera de los conjuntos de ambientes considerados (Figuras 10,11 y 12).

Para contrastar las observaciones realizadas, se ha procedido a identificar qué influencia ha presentado cada uno de los dos ejes del modelo AMMI2, sobre los distintos términos de la interacción en que se descompuso en la Tabla 24. Los resultados se muestran en la Tabla 26.

La Tabla 26 confirma que la componente de interacción vinculada al cambio en la fecha de siembra se ve principalmente reflejada en el eje IPCA1, que con tan sólo un grado de libertad, el 1,14% de los grados de libertad incluidos en el total de la interacción Fecha x Genotipo, explica el 77,9% de la misma. Tal y como se podía intuir

a la vista de las proyecciones sobre el eje IPCA2, éste no parece englobar ninguna información relevante vinculada a la adaptación al cambio de la fecha de siembra, puesto que tan sólo explica el 0,03% de dicha componente de interacción. Por tanto, cualquier interpretación posterior relativa a la adaptación con la fecha de siembra debería hacerse tan sólo sobre el primero de los dos ejes del AMMI.

TABLA 26: Descomposición de los componentes de la interacción GxE en función de los ejes de interacción del modelo AMMI2.

	gl	SC	R <sup>2</sup>
<b>GENOTIPO*AMBIENTE</b>	616	1513,78	
FECHA*GENOTIPO	88	367,82	
PCA1GENAMB*PCA1GENGENO	1	286,54	77,90
PCA2GENAMB*PCA2GENGENO	1	0,11	0,03
RESIDUAL Fecha*Genotipo	86	81,17	22,07
AMBIENTE(INVI)*GENOTIPO	264	929,90	
PCA1GENAMB*PCA1GENGENO	1	293,98	31,61
PCA2GENAMB*PCA2GENGENO	1	373,40	40,15
RESIDUAL Ambiente(Invi)*Gengeno	262	262,52	28,23
AMBIENTE(PRIM)*GENOTIPO	264	216,06	
PCA1GENAMB*PCA1GENGENO	1	8,91	4,12
PCA2GENAMB*PCA2GENGENO	1	8,40	3,89
RESIDUAL Ambiente(Pri)*Gengeno	262	198,75	91,99

gl: grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial respecto de la interacción GxE; PCAn: eje principal n definido el AMMI.

Respecto a la componente de interacción vinculada a los ambientes invernales, ambos ejes han presentado relación con la misma, explicando el eje IPCA1 el 31,61 % y el eje IPCA2 el 40,15 %. Es decir, con tan sólo dos grados de libertad, el 0,76% del total de grados de libertad de la componente de interacción vinculada a los ambientes de invierno, se ha conseguido explicar hasta el 71,76% de la variabilidad incluida en la misma.

Por el contrario, y tal y como podría deducirse de la mera interpretación visual de la Figura 14, considerando los dos ejes de trabajo no parece haberse conseguido explicar la componente de interacción vinculada a los ambientes primaverales, puesto que el residual no explicado supone casi el 92% de la interacción.

#### **4.1.6.- DETECCIÓN DE COVARIABLES AMBIENTALES INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE**

##### **4.1.6.1.- PRIMERA APROXIMACIÓN: ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN DE LAS COVARIABLES AMBIENTALES CON LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Como una primera aproximación al posible significado agroecológico de los ejes AMMI, se han calculado las correlaciones entre cada uno de los ejes AMMI con medidas ambientales directas tal y como proponen diversos autores (Vargas y col. 1999, Voltas y col 1999a, 1999b, 2002, Rodríguez y col. 2007).

En este punto es importante señalar que el número potencial de variables ambientales a incluir en el estudio de la interacción puede ser muy elevado, con lo que el modelo podría complicarse demasiado como para que todas esas variables pudieran ser agrónomicamente justificables (Romagosa y col. 2008). Lógicamente, en caso de disponer de información de muchas variables climáticas, se hace necesario el seleccionar aquellas que mejor permitan definir un ambiente (Cooper y Hammer 1996).

En total se ha partido de 44 covariables ambientales (ver Materiales y Métodos), de las cuales 11 han mostrado alguna correlación significativa con alguno de los ejes, que se muestran en la Tabla 27.

En función de la Tabla 27 de correlaciones detectadas, con respecto al eje IPCA1, las covariables ambientales asociadas a él que parecen estar involucradas en respuesta diferencial del rendimiento están todas relacionadas con parámetros vinculados al frío, en dos momentos fenológicos diferentes: desarrollo vegetativo y floración. Durante el desarrollo vegetativo, el número de días de helada *per se* no ha resultado significativo ( $P = 0,116$ , dato no presentado), mientras que sí lo han resultado cuando se han considerado parámetros vinculados al rigor de las mismas, como el número de días de helada con temperaturas menores a  $-3^{\circ}\text{C}$  o a  $-6^{\circ}\text{C}$ , siendo este último el parámetro que más parece identificar al eje IPCA1 (coeficiente de correlación,  $r = -0,942$ ). Esta posible vinculación del eje a intensidad o rigor de las heladas se confirma



cuando se observa que ningún otro parámetro vinculado con la temperatura en este periodo ha resultado significativo, salvo la temperatura mínima de mínimas. ( $r = 0,748$ ) La influencia de estas covariables vinculadas al rigor de las heladas, DiaHel3\_Dv y DiaHel6\_Dv, ha resultado con signo negativo, y positivo en el caso de Tmimi\_Dv. De esta forma, el eje IPCA1 parece determinado en primer lugar por la intensidad del frío durante el desarrollo vegetativo, tendiendo a situarse los ambientes con mayor rigor de frío con proyecciones menores en el eje IPCA1.

TABLA 27: Coeficientes de correlación de Pearson entre las covariables ambientales y los ejes IPCA del análisis AMMI.

COVARIABLE	IPCA1GENER	IPCA2GENER
<b>DiaHel_Fl</b>	-0,919 **	0,146
<b>DiaHel3_Dv</b>	-0,805 *	0,237
<b>DiaHel3_Fl</b>	-0,897 **	0,114
<b>DiaHel3_Tot</b>	-0,834 *	0,235
<b>DiaHel6_Dv</b>	-0,942 **	0,299
<b>DiaHel6_Tot</b>	-0,942 **	0,299
<b>Tmimi_Md</b>	-0,176	-0,745 *
<b>Tmimi_Dv</b>	0,748 *	-0,106
<b>Tmimi_Fl</b>	0,840 **	-0,243
<b>Tmimi_Md</b>	-0,114	-0,832 *
<b>Tmimi_Tot</b>	0,748 *	-0,106

Nivel de significatividad: \*  $0,01 < P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ .

DiaHel: Número de días de helada; DiaHel3: Número de días de helada por debajo de  $-3^{\circ}\text{C}$ ; DiaHel6: Número de días de helada por debajo de  $-6^{\circ}\text{C}$ ; Tmimi: Temperatura media de mínimas; Tmimi: Temperatura mínimas de mínimas; Tot: todo el ciclo de cultivo; Dv: desarrollo vegetativo; Fl: floración; Md: maduración.

Por otra parte, durante la floración, también han aparecido relacionados con el eje IPCA1 parámetros ambientales vinculados directamente al frío, si bien en este caso no parece tan importante el rigor de las heladas sino su mera ocurrencia, pues se ha detectado mayor correlación con el número de días de helada que cuando se considera algún grado de intensidad como la de  $-3^{\circ}\text{C}$ . De nuevo, en este periodo se ha detectado influencia en la temperatura mínima de mínimas. El signo de las correlaciones es coincidente al expuesto en el caso del desarrollo vegetativo.

## *Resultados y Discusión*

Ninguno de los parámetros considerados vinculados a precipitaciones ha resultado correlacionado de forma significativa con el eje IPCA1, con lo que por lo que respecta a este eje las diferencias ambientales en precipitación no parecen ocasionar un comportamiento diferencial en la expresión del rendimiento.

Se puede establecer de esta forma, y considerando el peso del eje IPCA1 en el modelo de análisis de la interacción, que la principal fuente de expresión diferencial en la expresión de los rendimientos está vinculada al rigor del frío en dos periodos del ciclo: el desarrollo vegetativo y la floración.

En el eje IPCA2 tan sólo han resultado tener una correlación directa significativa de signo negativo las temperaturas medias de mínimas (Tmemi\_Md) y mínimas de mínimas (Tmimi\_Md), ambas durante el periodo de maduración. Así el eje IPCA2 parece estar determinado por las temperaturas mínimas que se dan durante el desarrollo y maduración de la legumbre, a diferencia del eje IPCA1 que se refiere a los otros dos periodos del ciclo de cultivo. Los ambientes con temperaturas más frescas durante la maduración están asociados a valores altos del eje, lo que podría influir en la expresión diferencial de los genotipos dentro de los ambientes invernales, puesto que ya se ha expuesto que el eje IPCA2 pueda incluir tan sólo en la interacción vinculada a este tipo de ambiente.

### **4.1.6.2.- SEGUNDA APROXIMACIÓN: MODELIZACIÓN POR REGRESIÓN FACTORIAL FRENTE A LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Como complemento a lo anterior, se ha aplicado un modelo de regresión múltiple paso a paso considerando como variables dependientes las proyecciones ambientales sobre los ejes IPCA1 e IPCA2 respectivamente y como variables independientes todas las covariables ambientales consideradas desde un principio.

Los resultados obtenidos para el eje IPCA1, que figuran en la Tabla 28, indican que, tal y como podría deducirse directamente de los valores de correlación obtenidos, la covariable que ha resultado como mejor predictora ha sido DiaHel6\_Dv. El modelo también ha definido otra covariable significativa una vez se ha anulado el efecto de

DiaHel6\_Dv, es la Tmimi\_Md, que no fue definida como significativa en la metodología basada en la detección de correlaciones directas con los ejes AMMI. Del resto de correlaciones detectadas mediante dicha metodología ninguna se ha mantenido una vez eliminado el efecto de DiaHel6\_Dv.

TABLA 28: Covariables ambientales seleccionadas mediante regresión paso a paso empleando como variable dependiente el eje IPCA1.

Covariable	Parámetro estimado	Error estándar	SC Tipo II	Valor F	Pr > F
Término independiente	1,77443	0,39431	2,39144	20,25	0,0064
Tmimi_Md	-0,17706	0,06163	0,97461	8,25	0,0349
DiaHel6_Dv	-0,66275	0,0626	13,23528	112,08	0,0001

Paso	Covariable Introducida	Covariable Extraída	Nº var. Introducidas	R <sup>2</sup> Parcial	Modelo R <sup>2</sup>	C(p)	Valor F	Pr > F
1	DiaHel6_Dv	.	1	0,8883	0,8883	.	47,71	0,0005
2	Tmimi_Md	.	2	0,0696	0,9579	.	8,25	0,0349

SC: suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial; p valor máximo considerado: 0,05.  
 DiaHel6\_Dv: número de días de helada a partir de -6°C durante el desarrollo vegetativo; Tmimi\_Md: temperatura mínima de mínimas durante la maduración.

De ello se deduce que gran parte de las covariables inicialmente definidas como de interés por la significatividad de sus correlaciones encierran en realidad información común, y ninguna de ellas presenta un valor predictivo propio independiente del global de ellas. Asimismo, se ha conseguido definir una nueva covariable, Tmimi\_Md, con influencia en la componente de interacción reflejada en el eje IPCA1, con información independiente de las inicialmente detectadas, y enmascarada por el efecto de las mismas en la primera aproximación por correlación directa con el eje IPCA1.

De esta forma, el eje IPCA1, se define, en cuanto a las características ambientales que puedan motivar comportamientos diferenciales en el rendimiento, por dos covariables: la primera, DiaHel6\_Dv, representativa de los rigores de helada durante el periodo vegetativo, ha presentado un coeficiente de determinación parcial respecto a la variabilidad en el eje IPCA1 del 88,8%. La segunda, Tmimi\_Md, hace referencia a influencia de las temperaturas más frescas durante el proceso de llenado de grano y maduración, representando un coeficiente de determinación parcial en el modelo acumulado del 7% (Tabla 28).

## *Resultados y Discusión*

Se debe mencionar que cuando se ha discutido la posible influencia de las distintas covariables mediante la interpretación de las correlaciones directas, se encontró una posible influencia en este eje vinculada al rigor del frío en floración. Esta influencia en el análisis por regresión múltiple debe declararse como englobada en la establecida por el carácter DiaHel6\_Dv, representativo de ese rigor del frío pero durante el desarrollo vegetativo, puesto que al corregir el modelo eliminando su influencia desapareció la significatividad de los caracteres involucrados con el frío en floración. La conclusión a extraer es que, si bien no se puede descartar el frío en los dos periodos como fuente de comportamiento diferencial, tampoco se puede asegurar que el frío *per se* en floración pueda tener una influencia independiente al ocurrido en el desarrollo vegetativo. Todo parece indicar que en los ambientes considerados ha existido una fuerte correlación entre los rigores por frío en los dos periodos, lo que motiva los resultados obtenidos.

En cuanto a la interpretación práctica de la influencia del modelo obtenido, el polinomio de la recta de regresión atribuye una pendiente negativa (-0,66) a la covariable DiaHel6\_Dv, es decir, los ambientes caracterizados con mayor rigor de las heladas en el desarrollo vegetativo tienden a colocarse con valores menores en el eje IPCA1. En consecuencia, aquellos genotipos mejor adaptados a esos rigores del frío tenderán a tener también valores menores.

En cuanto a la otra covariable, Tmimi\_Md, una vez se ha incluido la anterior en el modelo también ha presentado una pendiente negativa (-0,18). En este caso, los genotipos con menores valores de proyección en el eje IPCA1 tendrán una componente de adaptación positiva a temperaturas mayores durante el periodo de llenado del grano y maduración.

Respecto al eje IPCA2 (Tabla 29), el modelo de regresión múltiple tan sólo ha definido una covariable de interés, las temperaturas mínimas de mínimas (Tmimi\_Md), durante la maduración, Así el eje IPCA2 parece estar determinado por las temperaturas mínimas que se dan durante la maduración. Los ambientes con temperaturas más frescas durante la maduración están asociados a valores altos del eje, lo que podría influir en la

expresión diferencial de los genotipos dentro de los ambientes invernales. Esta covariable también ha resultado predictora del eje IPCA1, aunque con un coeficiente de determinación mucho menor que para el eje IPCA2. La otra covariable que resultó significativa en las correlaciones directas, Tmimi\_Md, no ha resultado significativa en la regresión, lo que implica que ambas covariables encierran el mismo tipo de información tal y como se podría haber deducido previamente por la semejanza que hay entre ambas.

TABLA 29: Covariables ambientales seleccionadas mediante regresión paso a paso empleando como variable dependiente el eje IPCA2.

Variable	Parámetro estimado	Error estándar	SC Tipo II	Valor F	Pr > F
Término	2,87464	0,82789	6,98886	12,06	0,0133
Tmimi_Md	-0,49509	0,1349	7,80826	13,47	0,0105

Paso	Variable Introducida	Variable extraída	Nº var. Introducidas	R <sup>2</sup> Parcial	Modelo R <sup>2</sup>	C(p)	Valor F	Pr > F
1	Tmimi_Md	.	1	0,6918	0,6918	.	13,47	0,0105

SC: suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente determinación parcial; p valor máximo considerado: 0,05.  
Tmimi\_Md: temperatura mínima de mínimas durante la maduración.

En cuanto a la interpretación práctica de la influencia del modelo obtenido, el polinomio de la recta de regresión atribuye una pendiente negativa (-0,50) a la covariable Tmimi\_Md, es decir, los ambientes caracterizados con temperaturas más frescas en la maduración tienden a colocarse con valores mayores en el eje IPCA2. En consecuencia, aquellos genotipos mejor adaptados a esas temperaturas frescas tenderán a tener también valores mayores.

De esta forma, el eje IPCA2, queda definido, en cuanto a las características ambientales que puedan motivar comportamientos diferenciales, por una sola covariable, Tmimi\_Md, representativa de las temperaturas frescas que se dan durante la el llenado y maduración del grano, presentado un coeficiente de determinación parcial respecto a la variabilidad en el eje IPCA2 del 69,2%.

En cuanto a la influencia concreta de las covariables ambientales definidas como explicativas de la interacción GxE, en función de regresión múltiple sobre los ejes de

## Resultados y Discusión

interacción AMMI, sobre las distintas fuentes de la interacción GxE establecidas por la descomposición que considera las diferentes fechas de siembra, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 30.

TABLA 30: Influencia de las covariables ambientales explicativas sobre la interacción GxE y sus componentes.

INTERACCIONES	GENOTIPO *AMBIENTE			FECHA *GENOTIPO		AMBIENTE(INVI) *GENOTIPO		AMBIENTE(PRIM) *GENOTIPO	
	gl	SC	R <sup>2</sup> (%)	SC	R <sup>2</sup> (%)	SC	R <sup>2</sup> (%)	SC	R <sup>2</sup> (%)
	616	1513,78		367,82		929,9		216,06	
DiaHel6_Dv*GENOTIPO	88	561,26	37,08	190,77	48,13	384,21	41,32	0,00	0,00
Tmimi_Md*GENOTIPO	88	316,63	20,92	7,56	2,06	352,55	37,91	73,82	34,16

gl: grados de libertad; SC: suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial, en %.

DiaHel6\_Dv: Número de días de helada por debajo de -6°C durante el desarrollo vegetativo; Tmimi\_Md: Temperatura mínimas de mínimas durante la maduración.

Para la covariable DiaHel6\_Dv se ha obtenido un coeficiente de determinación parcial del 37,08% para la interacción general, y la Tmimi\_Md ha obtenido un 20,92%. Para la interacción de la fecha de siembra con los genotipos, la covariable DiaHel6\_Dv obtiene un porcentaje de explicación del 48,13%, mientras que la Tmimi\_Md ha obtenido un valor mucho menor, 2,06%. En la interacción de los genotipos dentro de los ambientes invernales, ambas covariables vuelven a tener porcentajes de explicación más igualados, mientras que en la interacción de los genotipos dentro de los ambientes primaverales es la Tmimi\_Md la única que la explica (R<sup>2</sup> del 34,16%). Se debe mencionar que en caso de la interacción dentro de los ambientes primaverales no se espera ningún peso para los días de helada menores de -6°C, puesto que no ha habido heladas por debajo de -6°C.

La obtención por un lado del peso de la influencia de las covariables ambientales sobre los ejes AMMI (Tablas 28 y 29), y por otro lado, sobre las distintas componentes de la interacción (Tabla 30), permite dar un mayor sentido al papel que juegan dichas covariables, ya que, recordemos que el eje IPCA1 explica la adaptación a la fecha de siembra (FECHA\*GENOTIPO) y la adaptación dentro de los inviernos (INVI\*GENOTIPO), y que el eje IPCA2 explica la adaptación dentro de los inviernos (INVI\*GENOTIPO). La covariable DiaHel6\_Dv ha sido la que más explica el eje IPCA1 (88,8%) y la mayor responsable dentro de la adaptación a la fecha de siembra

(48,13%), reforzando con estos resultados la relación entre el eje IPCA1 y la adaptación a la fecha de siembra. Lo mismo ha ocurrido cuando se considera la adaptación de los genotipos dentro de los inviernos, donde la covariable DiaHel6\_Dv es la que más explica esta adaptación al igual que es la que más explica en el eje IPCA1.

La relación entre el IPCA2 y la adaptación de los genotipos dentro de los inviernos queda reflejada en el 37,91% de  $R^2$  que se ha obtenido para la covariable Tmimi\_Md en dicha adaptación, al ser este el mayor valor que ha obtenido en las componentes de la interacción GxE, y ser la covariable ambiental que más explica el eje IPCA2.

Por consiguiente, en cuanto a las covariables ambientales se refiere, la adaptación a la fecha de siembra está influida principalmente por los fríos reales durante el desarrollo vegetativo sin una influencia aparente de parámetros ambientales vinculados al final del ciclo de cultivo. Asimismo, las heladas fuertes durante el desarrollo vegetativo son determinantes en el comportamiento diferencial de los genotipos a los ambientes invernales, pero en este caso, sí que hay una influencia de parámetros ambientales al final del ciclo de cultivo, las temperaturas frescas durante el llenado y maduración de la semilla.

Si bien la exploración inicial sobre los ejes AMMI no había detectado influencia en la interacción dentro de la siembra primaveral finalmente se ha conseguido definir una covariable ambiental que parece influir en la misma, vinculada a las temperaturas mínimas que se dan durante el desarrollo y maduración del fruto.

#### **4.1.7.- DETECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS INVOLUCRADAS EN LA INTERACCIÓN GxE**

##### **4.1.7.1.- ESTUDIO DE LA HEREDABILIDAD Y ELECCIÓN DE COVARIABLES GENOTÍPICAS PRELIMINARES**

Análogamente a lo realizado en el punto 4.1.6.-, se han incorporado covariables genotípicas al modelo estadístico con el fin de justificar las diferencias observadas en

## *Resultados y Discusión*

los genotipos o en las interacciones. Las variables genotípicas consideradas en este punto son los datos fenológicos y morfológicos evaluados durante la ejecución de los ensayos de campo y en cámara de ambiente controlado.

El estudio de la heredabilidad de las covariables genotípicas permite conocer qué parte de la varianza observada dentro de cada carácter se debe a la componente genética y no a la ambiental. Desde el punto de vista práctico, para el mejorador, interesa trabajar con caracteres (o covariables genotípicas) que muestren alta heredabilidad, pues este hecho permite prever avances más interesantes en la selección (Cubero 2003).

De acuerdo con Stanfield (1971), se ha considerado heredabilidad alta cuando ésta es mayor que 0,50. En la Tabla 31 se aportan los valores de heredabilidad obtenidos cuando se considera la información aportada por el total de los ambientes evaluados y los obtenidos cuando se consideran por separado los ambientes de siembra invernal y primaveral.

Siete de los 22 caracteres han mostrado una heredabilidad menores a 0,5 en cualquiera de los tres conjuntos de ambientes considerados, la maduración a primera vaina (MADIVAI) ha presentado una heredabilidad en los ambientes de invierno de 0,45, mientras que en los primaverales ha presentado un valor de 0,73. Esto significa que la expresión de este carácter en los ambientes de primavera probablemente no está tan influenciada por el ambiente, mientras que en los ambientes invernales la situación se invierte, dominando más en su expresión el ambiente. En consecuencia, para emplear este carácter como criterio de selección, sería más apropiado evaluarla en ambientes de primavera.

El resto de caracteres ha mostrado alta heredabilidad en todas las condiciones ambientales consideradas. Sin embargo, caracteres como, el peso de la semilla producida por planta (PSEM\_5) o la duración de la maduración total (DUMAT), han mostrado diferencias entre los valores de heredabilidad en los ambientes de invierno y los de primavera. En concreto, se ha detectado mayor heredabilidad en los ambientes de invierno, lo que significa que una hipotética selección para esos caracteres debería



realizarse en ese tipo de ambientes, ya que su expresión parece menos influida por el ambiente.

TABLA 31: Valores de heredabilidad en sentido amplio (H) para las covariables genotípicas.

<b>COVARIABLES GENOTÍPICAS</b>	<b>GENERAL</b>	<b>AMBIENTES INVERNALES</b>	<b>AMBIENTES PRIMAVERALES</b>
ALT_PAR	0,54 *	0,74 *	0,61 *
LON_PLA	0,60 *	0,79 *	0,71 *
ALT1VAI_PAR	0,62 *	0,63 *	0,78 *
LON1VAI_PLA	0,75 *	0,88 *	0,81 *
BIOM5PL	0,50 *	0,68 *	0,58 *
DUF	0,88 *	0,92 *	0,88 *
DUMAD1VAI	0,77 *	0,88 *	0,73 *
DUMADULTVAI	0,29	0,36	0,17
DUMADUR	0,27	0,23	0,40
DUMAT	0,65 *	0,76 *	0,55 *
FINFLO	0,22	0,18	0,47
FLOR_PEDU	0,71 *	0,75 *	0,76 *
INDCOS5PL	0,70 *	0,74 *	0,77 *
INIFLO	0,84 *	0,89 *	0,77 *
MAD1VAI	0,58 *	0,45	0,73 *
MAT	0,22	0,12	0,39
PNAS	0,11	0,10	0,15
PPAJA_5	0,53 *	0,75 *	0,60 *
PSEM_5	0,61 *	0,82 *	0,53 *
PSUP2_NASC	0,02	0,05	0,00
PSUP2_SEM	0,08	0,01	0,15
RAMAS	0,64 *	0,78 *	0,72 *

\* heredabilidad mayor de 0,5.

ALT\_PAR: Altura de la parcela; LON\_PLA: Longitud de la planta; ALT1VAI\_PAR: Altura a primera vaina de la parcela; LON1VAI\_PLA: Longitud a primera vaina de la planta; BIOM5PL: Biomasa producida por planta ; DUF: Duración de la floración; DUMAD1VAI: Duración de la maduración de la primera vaina; DUMADULTVAI: Duración de la maduración de la última vaina; DUMADUR: Duración de la maduración; DUMAT: Duración de la maduración total; FINFLO: Fin de floración; FLOR\_PEDU: Número medio de flores por pedúnculo o racimo; INDCOS5PL: Índice de cosecha por planta; INIFLO: Inicio de floración; MAD1VAI: Maduración de la primera vaina; MAT: Maduración total; PNAS: Porcentaje de nascencia; PPAJA\_5: Peso de la paja por planta; PSEM\_5: Producción se semilla por planta; PSUP2\_NAS: porcentaje de supervivencia al final del periodo de desarrollo vegetativo respecto de las plantas nacidas; PSUP2\_SEM: porcentaje de supervivencia al final del periodo de desarrollo vegetativo respecto de las semillas sembradas; RAMAS: Número de ramas principales.

Hay otros caracteres, LON\_PLA (longitud de la planta), ALT1VAI\_PAR (altura a primera vaina de la parcela), LON1VAI\_PLA (longitud a primera vaina de la planta), BIOM5PL (biomasa producida por planta), FLOR\_PEDU (número medio de flores por

## *Resultados y Discusión*

pedúnculo), INDCOS5PL (índice de cosecha por planta) y RAMAS (número de ramas principales, cuyo valor de heredabilidad en los ambientes de invierno y en los ambientes de primavera son semejantes, pero en apariencia son mayores al valor obtenido para el conjunto de todos los ambientes (general), lo que sugiere que parte de la influencia ambiental que influye en la expresión de esos caracteres puede deberse al cambio de fecha.

Los caracteres relacionados con la morfología han mostrado todos heredabilidades para todos los ambientes por encima de 0,5, con valores desde 0,53 para el peso de la paja producida por planta (PPAJA\_5) hasta 0,75 para la longitud a primera vaina (LON1VAI\_PLA). También, los caracteres relacionados con el rendimiento han obtenido todos valores por encima del umbral para cualquiera de los conjuntos ambientes. En cambio, los relacionados con la fenología han mostrado valores más variados, incluyendo el carácter de mayor heredabilidad de todos (0,98 para duración de la floración, DUF) el de menor heredabilidad (0,22 para la maduración total, MAT) si no se consideran los porcentajes de supervivencia y de nascencia.

En cuanto a estos últimos los porcentajes de supervivencia invernal (PSUP2\_NAS y PSUP2\_SEM) y porcentajes de nascencia (PNAS), sus heredabilidades varían entre 0,00 y 0,15 para cualquiera de los tres conjuntos de ambientes. Kahraman y col. (2004a), con la misma población, Precoz x WA8649041, ensayada en Turquía y EEUU obtuvieron valores de heredabilidad de 0,64 y 0,91 respectivamente, para el carácter porcentaje de supervivencia respecto de las sembradas (PSUP2\_SEM).

Sin embargo, esta información *a priori*, discordante con lo obtenido en este estudio queda aclarada cuando se considera que la heredabilidad aquí definida lo ha sido considerando grupos de ambientes, mientras que dichos autores aportan estos datos en función de ambientes individuales. Cuando se han calculado los valores de heredabilidad para cada ambiente particular, la situación cambia notablemente, obteniendo unos valores de heredabilidad entre 0,79 y 0,97 para el mismo carácter (Tabla 32), datos más en concordancia a los obtenidos por Kahraman y col. (2004a).

Esta gran diferencia entre los valores heredabilidad considerando el conjunto de ambientes (general, primaveral e invernal) o considerando cada ambiente particular no sólo se da en el porcentaje de supervivencia respecto de las sembradas, si no también entre el porcentaje de nascencia y el porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas. En la Tabla 32, se observa que los valores de heredabilidad para los porcentajes de supervivencia respecto de las sembradas es casi siempre mayor que respecto de las nacidas, (salvo para el ambiente particular ZI08), consecuencia de la influencia que tiene el ambiente desde el mismo momento de la siembra.

TABLA 32: Heredabilidades en sentido amplio obtenidas para cada ambiente particular.

CARACTERES	PI08	PP08	ZI06	ZI07	ZI08	ZP06	ZP07	ZP08
PNAS	0,95	0,87	0,90	0,88	0,77	0,97	0,79	0,81
PSUP2_NAS	0,52	0,07	0,75	0,39	0,84	0,31	0,00	0,27
PSUP2_SEM	0,95	0,87	0,89	0,87	0,79	0,97	0,79	0,81

PNAS: porcentaje de nascencia; PSUP2\_NAS: porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas; PSUP2\_SEM: de supervivencia respecto de las semillas sembradas.

El resto de caracteres con heredabilidades mayores de 0,5 no muestran diferencias tan notables, como el caso de los porcentajes de supervivencia, cuando se comparan con los resultados obtenidos por otros autores (Biçer y Sarkar 2008, Biçer y Sarkar 2010, Abdipur y col. 2011, Rathi y col. 2002, Dayachand y col. 2002).

Así, por ejemplo, el inicio de floración (INIFLO) ha sido uno de los caracteres estudiados que más estable presenta su valor de heredabilidad, ya que Biçer y Sarkar (2008, 2010) obtuvieron valores de 0,94 y 0,71, respectivamente, para los días a floración, y Abdipur y col. (2011) de 0,92 para los días a 50% de floración.

En relación con la diferencia entre los genotipos y ambientes ensayados, Omvir y Gupta (2000), ensayando líneas derivadas de cuatro cruzamientos macrosperma x microsperma, dos de ellos con Precoz como parental, para el carácter tamaño de la semilla obtuvieron valores de heredabilidad más altos en los ambientes donde las lentejas daban mayor producción, y viceversa.

De esta forma, los caracteres finalmente considerados para la definición de covariables genotípicas han sido aquellos que han tenido algún valor de heredabilidad

## *Resultados y Discusión*

por encima de 0,5 en alguno de los tres conjuntos de ambientes: BIOM5PL, PPAJA\_5, ALT\_PAR, MAD1VAI, LON\_PLA, PSEM\_5, ALT1VAI\_PAR, RAMAS, DUMAT, INDCOS5PL, FLOR\_PEDU, LON1VAI\_PLA, DUMAD1VAI, INIFLO y DUF, derivando la covariable de aquellas condiciones ambientales en que mayor heredabilidad se haya detectado.

### **4.1.7.2.- ANÁLISIS DE LA VARIANZA CONSIDERANDO LA DESCOMPOSICIÓN DEL AMBIENTE EN FUNCIÓN DE LA FECHA DE SIEMBRA UNA VEZ INCLUIDAS LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS**

En la Tabla 33 se muestran los coeficientes de determinación parcial ( $R^2$ ) explicados por la influencia de cada una de las covariables genotípicas en la interacción genotipo x ambiente total, GxE, así como sobre cada una de sus componentes considerando la adaptación a la fecha de siembra, adaptación dentro de los ambientes invernales y adaptación dentro de los ambientes primaverales.

Según muestra la Tabla 33, para la interacción GxE del modelo general no hay ninguna covariable genética que haya representado un peso alto en esta interacción, sin que haya habido grandes diferencias entre ellas. La tolerancia a las heladas (TOLHEL) ha sido la que mayor porcentaje de explicación tiene para el conjunto de los ambientes ensayados, seguida del peso de semillas producidas por planta (PSEM\_5), con un 13,45 % y un 9,95 % respectivamente. En el lado opuesto se sitúan el peso de mil semillas (P1000), el número de flores por pedúnculo (FLOR\_PEDU) y el número de ramas (RAMAS), todas ellas por debajo del 5 % de explicación. En general, parece que las covariables genotípicas referidas a la fenología tuvieron una importancia individual ligeramente mayor que las referidas a morfología o rendimiento.

Sin embargo, cuando se considera la componente de la interacción FECHA\*GENOTIPO, que explica la adaptación a la fecha de siembra, el peso de las covariables ambientales cambia notablemente. Así, se muestra que la tolerancia a las heladas (TOLHEL) es la covariable con mayor influencia individual en la adaptación a la fecha de siembra ( $R^2$  de 40,68). Del resto de covariables, si bien a mucha distancia de

TOLHEL, tan sólo la longitud de la planta (LON\_PLA) y el número de ramas principales (RAMAS) parecen haber presentado valores más altos a la globalidad de las demás (4,74 y 4,26% respectivamente, frente a valores prácticamente menores del 1%). No se ha encontrado ninguna influencia en las covariables relacionadas con la fenología.

TABLA 33: Influencia de las covariables genóticas explicativas sobre la interacción GxE y sus componentes.

INTERACCIONES	*AMBIENTE		*FECHA		*AMBIENTE(INVI)		*AMBIENTE(PRIM)	
	GENOTIPO		FECHA		AMBIENTE(INVI)		AMBIENTE(PRIM)	
	*AMBIENTE		*GENOTIPO		*GENOTIPO		*GENOTIPO	
	SC = 1513,78		SC = 367,82		SC = 929,9		SC = 216,1	
	SC	R <sup>2</sup>	SC	R <sup>2</sup>	SC	R <sup>2</sup>	SC	R <sup>2</sup>
LON_PLA*	110,66	7,31	17,45	4,74	82,39	8,86	10,82	5,01
LON1VAI_PLA*	103,83	6,86	1,01	0,27	85,94	9,24	16,88	7,81
BIOM5PL*	83,19	5,5	1,86	0,51	73,01	7,85	8,33	3,85
DUF*	137,95	9,11	0,09	0,03	119,80	12,88	18,06	8,36
DUMAD1VAI*	139,06	9,19	0,51	0,14	122,12	13,13	16,43	7,60
DUMAT*	144,00	9,51	0,00	0,00	125,83	13,53	18,16	8,41
FLOR_PEDU*	65,24	4,31	2,5	0,68	46,14	4,96	16,59	7,68
INDCOS5PL*	106,48	7,03	4,65	1,26	75,32	8,10	26,50	12,27
INIFLO*	137,88	9,11	0,19	0,05	115,62	12,43	22,07	10,22
MAD1VAI*	106,99	7,07	2,97	0,81	87,22	9,38	16,81	7,78
P1000*	54,36	3,59	1,61	0,44	46,43	4,99	6,33	2,93
PSEM_5*	150,67	9,95	4,06	1,10	135,41	14,56	11,20	5,19
RAMAS*	69,45	4,59	15,68	4,26	46,69	5,02	7,08	3,28
TOLHEL*	203,64	13,45	149,63	40,68	38,31	4,12	15,70	7,27

SC: suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial, en %.

LON\_PLA: longitud de la planta; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina; BIOM5PL: biomasa producida por planta; DUF: duración de la floración; DUMAD1VAI: duración de la maduración de la primera vaina; DUMAT: duración de la madurez total; FLOR\_PEDU: número de flores por pedúnculo; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta; INIFLO: días a inicio de floración; MAD1VAI: días a maduración primera vaina; P1000: peso de 1000 semillas; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta; RAMAS: número de ramas principales; TOLHEL: tolerancia a las heladas.

En función de estos resultados, para los ambientes ensayados, la tolerancia a las heladas resulta determinante en la adaptación de los genotipos a la fecha de siembra. Otra conclusión, es la prácticamente nula importancia que ha presentado la fenología en la adaptación a la fecha de siembra, cuando *a priori*, podía ser no esperable puesto que una de las diferencias que hay entre las siembras invernales y primaverales es la diferencia en cuanto a la adaptación fenológica del cultivo, ya que en las siembras

## *Resultados y Discusión*

invernales se tiende a adelantar dicha fenología respecto a las primaverales, con lo que es esperable una respuesta diferencial frente a dos tipos de estreses como pueden ser las heladas tardías o la sequía terminal (Kahraman y col. 2004a). En apariencia, la expresión diferencial en el rendimiento motivada por la variabilidad fenológica de la población de trabajo, en cuanto a precocidad en floración o en cuanto a duración de los distintos periodos reproductivos, no se ha visto realmente afectada por dichos estreses en los ambientes considerados.

En cuanto a la influencia de las covariables genotípicas en la adaptación considerando sólo los ambientes invernales, la productividad unitaria es la que mayor coeficiente de determinación parcial ha presentado, 14,56%. Sin embargo, en conjunto, son las covariables que hacen referencia a la fenología las que mayores coeficientes generales han presentado. En este caso, la tolerancia a las heladas, ha resultado ser la covariable con menor importancia en el comportamiento diferencial de los genotipos en ambientes de invierno.

En general, cuando comparamos los resultados obtenidos para la adaptación de los genotipos a la fecha de siembra, y para la adaptación dentro de los ambientes invernales, se aprecia una situación claramente diferente: mientras que la tolerancia a las heladas es importante en la adaptación a la fecha de siembra, en las diferentes entre los distintos inviernos ésta tiene poca importancia. Con las covariables relacionadas con la fenología la situación se invierte, careciendo de importancia en la adaptación a la fecha de siembra, si bien, juegan un mayor papel en la interacción dentro de los inviernos.

Resulta curioso que la tolerancia a las heladas tenga gran importancia, en comparación con otras covariables, en la adaptación a la fecha de siembra, pero luego carezca de importancia dentro de los ambientes invernales, cuando *a priori* cabría esperar que tuviera también cierta importancia en el supuesto de considerar inviernos con diferentes grados de dureza. Una posible explicación es que en realidad los inviernos considerados no han sido lo suficientemente variables en cuanto a parámetros relacionados con el rigor de las heladas y el frío como para que hayan podido producirse

diferenciales en la expresión del rendimiento motivados por los diferentes niveles de tolerancia definidos.

En la adaptación de los genotipos dentro de los ambientes de siembra primaveral, las covariables genotípicas que mayor influencia presentaron fueron el índice de cosecha y la fecha de inicio de floración, con valores de  $R^2$  de 12,27 y 10,22% respectivamente, no habiendo ningún tipo de covariables que tenga una influencia predominante.

#### **4.1.7.3.- PRIMERA APROXIMACIÓN: ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN DE LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS CON EL RENDIMIENTO Y CON LOS EJES DEL MODELO AMMI**

La Tabla 34 muestra las correlaciones directas de las covariables genotípicas con los ejes AMMI y con el rendimiento medio general, habiéndose detectado correlaciones positivas con un nivel de significatividad de 0,05 para una sola covariable, TOLHEL, y considerando el nivel de 0,01 para las covariables: PSEM\_5, INDCOS5PL, DUF, DUMAD1VAI y DUMAT.

Las correlaciones negativas a nivel de significatividad de 0,05 se han detectado para las covariables FINFLO y FLOR PEDU, y a nivel de 0,01: MAD1VAI, LON1VAI\_PLA e INIFLO.

En función de lo anterior, se puede establecer una definición preliminar del ideotipo de lenteja para el global de los ambientes objetivo, en función de la influencia de las covariables estudiadas sobre la componente aditiva genotípica del rendimiento. Así, el ideotipo asociado positivamente al rendimiento, sería aquel caracterizado por una expresión, dentro del rango de expresiones para los distintos caracteres obtenidos en este estudio, de alta de productividad por planta, con índice de cosecha alto, floración y maduración a primera vaina precoces, duración larga de los periodos de floración y maduración total, con poca longitud a la primera vaina y tamaño de foliolo pequeño. También se pueden considerar, aunque con un menor nivel de significatividad, la

## Resultados y Discusión

expresión de menos flores por pedúnculo y que muestren parámetros de tolerancia a las heladas altos.

TABLA 34: Coeficientes de correlación de Pearson entre las covariables genotípicas y, el rendimiento general y ejes del modelo AMMI 2.

Covariable	Rendimiento general	P	IPCA1	P	IPCA2	P
BIOM5PL	0,01	ns	-0,24	*	-0,05	ns
DUF	0,40	**	0,04	ns	0,50	**
DUMAD1VAI	0,39	**	0,05	ns	0,52	**
DUMAT	0,39	**	0,01	ns	0,53	**
FLOR_PEDU	-0,22	*	-0,01	ns	-0,24	*
INDCOS5PL	0,46	**	0,08	ns	0,47	**
INIFLO	-0,41	**	-0,06	ns	-0,49	**
LON_PLA	-0,11	ns	-0,30	*	-0,30	**
LON1VAI_PLA	-0,39	**	-0,09	ns	-0,41	**
MAD1VAI	-0,30	**	-0,12	ns	-0,41	**
P1000	0,06	ns	0,07	ns	0,29	**
PSEM_5	0,63	**	-0,17	ns	0,57	**
RAMAS	-0,11	ns	-0,18	ns	-0,27	**
TOLHEL	0,23	*	-0,50	**	-0,22	*

P: nivel de significatividad, ns (no significativo), \* (entre 0,01 y 0,05); \*\* (menor de 0,01.)

LON\_PLA: longitud de la planta; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina; BIOM5PL: biomasa producida por planta; DUF: duración de la floración; DUMAD1VAI: duración de la maduración de la primera vaina; DUMAT: duración de la madurez total; FLOR\_PEDU: número de flores por pedúnculo; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta; INIFLO: días a inicio de floración; MAD1VAI: días a maduración primera vaina; P1000: peso de 1000 semillas; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta; RAMAS: número de ramas principales; TOLHEL: tolerancia a las heladas.

En el primer eje de interacción, IPCA1, no ha habido correlaciones significativas positivas, resultando todas de signo negativo, siendo a nivel de 0,05, ALT\_PAR, BIOM5PL y LON\_PLA, y a nivel de 0,01, tan sólo TOLHEL (Tabla 34).

Salvo para la covariable TOLHEL, ninguna de las covariables correlacionadas con la componente de interacción asociada al eje PCA1 había resultado correlacionada significativamente con la componente aditiva genotípica del rendimiento. De esta forma, estos caracteres parecen estar claramente involucrados en la adaptación específica en determinados tipos de ambientes y no en una adaptación general.



Para dar un sentido práctico a estos resultados hay que recordar que este eje está relacionado con la adaptación a la fecha de siembra, valores bajos en este eje están vinculados a ambientes de siembra invernal, y viceversa. También explica el comportamiento diferencial de los genotipos dentro de los ambientes de invierno.

Además, según los resultados obtenidos con las covariables ambientales, el eje IPCA1 está influido por los fríos reales durante el desarrollo vegetativo, y por temperaturas frescas durante el llenado de grano y maduración, de tal manera que cuanto más bajas son esas temperaturas en un ambiente, menor valor alcanza en el eje IPCA1.

Considerando la interpretación basada en las covariables ambientales para el eje IPCA1, se puede profundizar algo más en el ideotipo buscado cuando se consideran parámetros vinculados a la adaptación al cambio en la fecha de siembra y al rigor del frío durante el periodo de desarrollo vegetativo. Así, el ideotipo buscado para realización de fecha de siembra invernal, en especial en aquellas zonas caracterizadas por el rigor alto de las heladas, se confirma que debe presentar parámetros altos de tolerancia a las heladas, que parecen no ser tan necesarios, e incluso podría tener cierta influencia negativa, en siembras primaverales. Asimismo, se verán más beneficiados, en cuanto al diferencial de expresión de rendimiento motivado por la siembra invernal o por el rigor de las heladas, aquellos genotipos con mayor longitud de planta (traducido también en mayor altura de la planta y capaces de generar valores altos de biomasa). Este tipo de genotipos presentarán una componente positiva en el rendimiento en condiciones de siembra invernal o periodos iniciales de crecimientos caracterizados por fríos rigurosos.

La comparación entre la influencia individual de las covariables genotípicas en la adaptación a la fecha de siembra y las correlaciones directas de las covariables genotípicas con el eje IPCA1, muestra resultados concordantes, pues es la tolerancia a las heladas la que mayor influencia individual tiene en la adaptación de los genotipos a la fecha de siembra, y además es la que tiene una mayor correlación directa con el eje IPCA1 que representa esta misma adaptación, lo que viene a reforzar el sentido que tiene el eje IPCA1 en cuanto adaptación a la fecha de siembra. Esto no sólo ocurre con

## *Resultados y Discusión*

la tolerancia a las heladas, pues igual de concordantes son los resultados obtenidos con las covariables genóticas relacionadas con la fenología.

En el eje IPCA2 se han detectado correlaciones positivas con un nivel de 0,01 para las covariables PSEM\_5, DUMAT, DUMAD1VAI, DUF, INDCOS5PL y P1000 (en orden decreciente de correlación). A nivel de significatividad de 0,05 no se han detectado correlaciones positivas (Tabla 34).

Las correlaciones negativas detectadas con un nivel de significatividad de 0,01 han sido para las covariables RAMAS, LON\_PLA, ALT\_PAR, LON1VAI\_PLA, MAD1VAI, INIFLO y FINFLO. Y a nivel de significatividad de 0,05 se han detectado para las covariables TOLHEL, FLOR\_PEDU y ALY1VAI\_PL.

En análisis previos se ha visto que el eje IPCA2 explica la adaptación de los genotipos en los ambientes invernales, y que las temperaturas mínimas durante el periodo de formación y desarrollo de la semilla es la covariable que más influye en este eje, tal que los ambientes con temperaturas más frescas durante el periodo de maduración, mayor valor alcanzan en el eje IPCA2.

Por consiguiente, los parámetros genóticos, que parecen interactuar con las temperaturas frescas durante el periodo de maduración serán: mayor producción de semilla unitaria, semillas de tamaño grande, menor tamaño de la planta (que se traduce en menos longitud total y a primera vaina, y menos número de ramas, teniendo por tanto mayor índice de cosecha), precocidad en cuanto al inicio de floración y maduración a primera vaina, largos periodos de floración, de maduración de la primera vaina y de madurez total. A su vez, aunque con menos significatividad, el menor número de flores por pedúnculo y tolerancia a las heladas menor.

Al comparar el presente trabajo, con las publicaciones mostradas en la Tablas 35 y 36, se observan resultados concordantes o discordantes en función de la covariables genótica considerada, incluso dentro la misma publicación, probablemente debido por un lado a los diferentes genotipos estudiados o a los diferentes ambientes ensayados, y por otra parte, debido a los distintos métodos de cálculo de las correlaciones.

TABLA 35: Comparación entre correlaciones negativas entre diferentes caracteres con el rendimiento obtenidas por diferentes autores.

	INIFLO	LON1VAI_PLA	MAD1VAI	FLOR_PEDU	LON_PLA	RAMAS
<b>Rendimiento</b>	<b>-0,41</b>	<b>-0,39</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,22</b>	<b>-0,11</b>	<b>-0,11</b>
<b>P</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>*</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>IPCA1</b>	<b>-0,06</b>	<b>-0,09</b>	<b>-0,12</b>	<b>-0,01</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,18</b>
<b>P</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>	<b>ns</b>
<b>IPCA2</b>	<b>-0,49</b>	<b>-0,41</b>	<b>-0,41</b>	<b>-0,24</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,27</b>
<b>P</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
Sarwar y col. (1984)	.	.	.	.	.	+
Murari y col. (1988)	.	.	.	.	+	+
Luthra y Sharma (1990)	.	.	.	.	.	.
Tikka y col. (1997)	.	.	.	.	+	.
Pandey y col. (1992)	.	.	.	.	.	.
Esmail y col. (1994)	.	.	.	.	+	+
Çiftçi y col. (1998)	.	.	.	.	.	+
Zaman y col. (1999)	.	.	.	.	.	+
Amanullah y Hatam (2000)	.	.	.	.	-	+
Whitehead y col. (2000)	.	.	.	.	.	.
Chauhan y Singh (2001)	.	.	.	.	.	.
Yadav y col. (2003)	.	.	.	.	.	.
Kakde y col. (2005)	.	.	.	.	.	.
Hanlan y col. (2006)	.	.	.	.	.	-
Mishra y col. (2007)	.	.	.	.	+	+
Biçer y Sakar (2008)	.	.	.	.	.	.
Salehi,y col. (2008)	.	.	.	.	.	.
Younis y col. (2008)	+	.	.	.	+	+
Karadavut (2009)	.	.	.	.	.	.
Naresh y col. (2009)	.	.	.	.	+	+
Tyagi y col. (2011)	.	.	.	.	+	+

P: nivel de significación, ns (no significativo), \* (entre 0,01 y 0,05); \*\* (menor de 0,01); +: correlación positiva; -: correlación negativa; .: covariable no evaluada.

LON\_PLA: longitud de la planta; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina; BIOM5PL: biomasa producida por planta; DUF: duración de la floración; DUMAD1VAI: duración de la maduración de la primera vaina; DUMAT: duración de la madurez total; FLOR\_PEDU: número de flores por pedúnculo; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta; INIFLO: días a inicio de floración; MAD1VAI: días a maduración primera vaina; P1000: peso de 1000 semillas; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta; RAMAS: número de ramas principales; TOLHEL: tolerancia a las heladas.

El índice de cosecha es uno de los caracteres más estudiados por numerosos autores (Çiftçi y col. 1998, Karadavut 2009, Yadav y col. 2003, Kakde y col. 2005, Younis y col. 2008, Amanullah y Hatam 2000, Naresh y col. 2009, Salehi y col. 2008, Chauham y Singh 2001) y en el que todos están de acuerdo en que tiene un coeficiente

## Resultados y Discusión

de correlación significativa positiva con el rendimiento, independientemente del tipo de material genético empleado, ambientes ensayados o tipo de coeficiente de correlación calculado. En este trabajo se ha obtenido de coeficiente el segundo valor más alto de los caracteres evaluados, 0,46.

TABLA 36: Comparación entre correlaciones positivas entre diferentes caracteres con el rendimiento obtenidas por diferentes autores.

	BIOM5PL	P1000	TOLHEL	DUMAD1VAI	DUMAT	DUF	INDCOSE5PL	PSEM_5
<b>Rendimiento</b>	<b>0,01</b>	<b>0,06</b>	<b>0,23</b>	<b>0,39</b>	<b>0,39</b>	<b>0,4</b>	<b>0,46</b>	<b>0,63</b>
<b>P</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
<b>IPCA1</b>	<b>-0,24</b>	<b>0,07</b>	<b>-0,50</b>	<b>0,05</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>	<b>0,08</b>	<b>-0,17</b>
<b>P</b>	<b>*</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>IPCA2</b>	<b>-0,05</b>	<b>0,29</b>	<b>-0,22</b>	<b>0,52</b>	<b>0,53</b>	<b>0,50</b>	<b>0,47</b>	<b>0,57</b>
<b>P</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>	<b>*</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
Sarwar y col. (1984)	.	.	.	.	.	.	.	.
Murari y col. (1988)	.	+	.	.	.	.	.	.
Luthra y Sharma (1990)	+	-	.	.	.	.	.	+
Tikka y col. (1990)	.	.	.	.	.	.	.	.
Pandey u col. (1992)	.	-	.	.	.	.	.	.
Esmail y col. (1994)	.	.	.	.	.	-	.	.
Çiftçi y col. (1998)	+	.	.	.	.	.	+	.
Zaman y col. (1999)	.	.	.	.	.	.	.	.
Amanullah y Hatam (2000)	.	.	.	.	.	.	+	+
Whitehead y col. (2000)	+	.	.	.	.	.	.	.
Chauhan y Singh (2001)	.	.	.	.	.	.	+	.
Yadav y col. (2003)	+	.	.	.	.	.	+	.
Kakde y col. (2005)	+	.	.	.	.	.	+	.
Hanlan y col. (2006)	+	.	.	.	.	.	.	.
Mishra y col. (2007)	.	.	.	.	.	.	.	.
Bicer y Sakar (2008)	+	.	.	.	.	.	.	.
Salehi.y col. (2008)	+	.	.	.	.	.	+	+
Younis y col. (2008)	.	+	.	.	.	.	+	.
Kadavarut (2009)	+	.	.	.	.	.	+	.
Naresh y col. (2009)	+	.	.	.	.	.	+	.
Tyagi y col. (2011)	+	.	.	.	.	.	.	.

P: nivel de significatividad, ns (no significativo), \* (entre 0,01 y 0,05); \*\* (menor de 0,01); +: correlación positiva; -: correlación negativa; ·: covariable no evaluada.

LON\_PLA: longitud de la planta; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina; BIOM5PL: biomasa producida por planta; DUF: duración de la floración; DUMAD1VAI: duración de la maduración de la primera vaina; DUMAT: duración de la madurez total; FLOR\_PEDU: número de flores por pedúnculo; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta; INIFLO: días a inicio de floración; MAD1VAI: días a maduración primera vaina; P1000: peso de 1000 semillas; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta; RAMAS: número de ramas principales; TOLHEL: tolerancia a las heladas.

El carácter que mayor coeficiente de correlación produjo fue productividad por planta (0,63) lo que está en concordancia con Luthra y Sharma (1990), Amanullah y Hatam (2000) y, Salehi y col. (2008).

Tikka y col. (1997) o Tyagi y Khan. (2011) encontraron correlaciones significativas positivas con el rendimiento para la longitud de la planta, en cambio, Amanullah y Hatam (2000) encontraron correlaciones de signo contrario, al igual que lo obtenido en el presente trabajo, aunque no resultó significativa (-0,11).

En cambio, un carácter que no ha resultado significativo en este trabajo pero que en las publicaciones relacionadas resulta ser el carácter que más autores concluyen que tiene una correlación positiva con el rendimiento, es la biomasa, que entre otros (Tablas 35 y 36) lo han observado Biçer y Sakar (2008) y Abdipur y col. (2011). Así, Whitehead y col. (2000) establecen una correlación positiva entre la biomasa y el rendimiento en semilla cuando los genotipos están fenológicamente adaptados al ambiente, permitiendo permanecer constante al índice de cosecha.

Karadavut (2009), ensayando con 24 variedades de lenteja, encontró que la biomasa y el índice de cosecha tuvieron correlaciones significativas positivas con el rendimiento.

Naresh y col. (2009), empleando líneas RIL  $F_6$  derivadas de cruces macrosperma x microsperma, concluyeron mediante análisis de sendero (o análisis "path"), que la biomasa, el número de ramas primarias y la longitud de la planta, entre otros caracteres, estaban positivamente correlacionados con el rendimiento, estableciendo que la planta que tenga gran biomasa, alto índice de cosecha, gran número de vainas por planta, gran número de nudos fértiles, muchas ramas primarias y que sea altas, podría mejorar el rendimiento.

En cuanto a la duración de la floración (DUF) se ha obtenido una correlación positiva con el rendimiento. Sin embargo, Ismail y col. (1994) obtuvieron correlaciones de signo contrario.

## *Resultados y Discusión*

Younis y col. (2008) encontraron que el inicio de floración tuvo un efecto directo positivo sobre el rendimiento, lo que está en discordancia con los resultados obtenidos en este trabajo (-0,41). La correlación negativa entre el inicio de la floración y el rendimiento, se justifica en climas mediterráneos por el escape de los estreses debidos al calor y a la sequía terminal, ya que éstos provocan una disminución del rendimiento (Ney y Duc 1997). Aunque un exceso de precocidad podría traducirse en una disminución del rendimiento debido a los efectos negativos de las heladas primaverales, o a un tiempo más corto para el desarrollo vegetativo.

El tamaño del foliolo ha mostrado una correlación negativa con el rendimiento, estando en concordancia con Abdipur y col. (2011), quienes también encontraron correlaciones negativas con el rendimiento del área foliar al ensayar en condiciones de secano.

Se acaban de citar trabajos realizados donde relacionan positivamente la longitud de la planta, la biomasa, el índice de cosecha, el peso de mil semillas, y el número de ramas principales, con el rendimiento. En cambio, en el presente trabajo estos caracteres no han resultado significativos, salvo el índice de cosecha.

### **4.1.7.4.- SEGUNDA APROXIMACIÓN: MODELIZACIÓN POR REGRESIÓN FACTORIAL FRENTE A LOS EJES DEL MODELO AMMI**

Análogamente a lo realizado con las covariables ambientales, se ha aplicado un modelo de regresión múltiple paso a paso considerando como variables dependientes las proyecciones genotípicas sobre los ejes IPCA1 e IPCA2 respectivamente y como variables independientes todas las covariables genotípicas consideradas desde un principio. En este caso, también se ha realizado considerando como otra variable dependiente la componente aditiva genotípica del rendimiento.

#### **4.1.7.4.1.- RENDIMIENTO MEDIO GENERAL**

En la Tabla 37 se muestran los resultados obtenidos para el rendimiento medio general, resultando un modelo con ocho covariables genotípicas como mejor predictoras

del rendimiento, siendo la covariable más explicativa la tolerancia a las heladas (TOLHEL). El modelo finalmente ha explicado un 78% de la componente aditiva genotípica del rendimiento.

De la comparación de las covariables genotípicas que resultaron significativas en las correlaciones directas, frente a las covariables que han resultado incluidas en el modelo de regresión factorial, se deducen dos observaciones. La primera es que parte de las covariables significativas en las correlaciones directas no han sido incluidas finalmente en el modelo, como son PSEM\_5, DUF, DUMAD1VAI, MAD1VAI, TAMFOL, FINFLO y FLOR\_PEDU. Se deduce, pues, que estas covariables genotípicas encierran en realidad información común, no representando ninguna de ellas un valor predictivo propio independientemente del global de las demás.

TABLA 37: Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión factorial para el rendimiento y obtención de parámetros de rectas de regresión.

Paso	Variable Introducida	Variable Extraída	Nº var. Introducidas	R <sup>2</sup> Parcial	Modelo R <sup>2</sup>	C(p)	Valor F	Pr > F
1	INDCOS5PL		1	0,2099	0,2099	206,9890	23,12	<0,0001
2	TOLHEL		2	0,2636	0,4735	111,5810	43,05	<0,0001
3	INIFLO		3	0,0645	0,538	89,7605	11,86	0,0009
4	BIOM5PL		4	0,0781	0,616	62,9098	17,08	<0,0001
5	PPAJA_5		5	0,0984	0,7145	28,5271	28,62	<0,0001
6		INDCOS5PL	4	0,0024	0,712	27,4223	0,70	0,4038
7	DUMAT		5	0,0292	0,7413	18,6183	9,38	0,0030
8	LON_PLA		6	0,0171	0,7583	14,3110	5,79	0,0184
9	LON1VAI_PLA		7	0,0293	0,7876	5,4974	11,16	0,0013

Variable	Parámetro estimado	Error Estándar	SC Tipo II	Valor F	Pr > F
Término independiente	2,89308	1,18656	0,38883	5,94	0,0169
LON_PLA	0,02908	0,00724	1,05454	16,12	0,0001
LON1VAI_PLA	-0,03801	0,01138	0,72983	11,16	0,0013
BIOM5PL	0,06359	0,00707	5,29309	80,93	<0,0001
DUMAT	-0,01871	0,00606	0,62389	9,54	0,0028
INIFLO	-0,0246	0,00729	0,74583	11,40	0,0011
PPAJA_5	-0,06096	0,00787	3,92035	59,94	<0,0001
TOLHEL	0,30483	0,02683	8,44529	129,12	<0,0001

Término independiente: punto de corte de la recta de regresión con el eje de las abscisas; Parámetro estimado: pendiente de la recta de regresión; SC Tipo II: suma de cuadrados tipo II; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial.

## *Resultados y Discusión*

INDCOS5PL: índice de cosecha por planta; TOLHEL: tolerancia a las heladas; INIFLO: inicio de floración; BIOM5PL: biomasa producida por planta; PPAJA\_5: peso de la paja producida por planta; DUMAT: duración de la madurez total; LON\_PLA: longitud de la planta; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina

### **4.1.7.4.2.- PRIMER EJE DE INTERACCIÓN DEL MODELO AMMI (IPCA1)**

El resultado de la aplicación del modelo de regresión múltiple paso a paso considerando como variables dependientes las proyecciones genóticas sobre el eje IPCA1 y como variables independientes todas las covariables ambientales consideradas desde un principio, se muestran en la Tabla 38.

Los resultados obtenidos para el eje IPCA1 indican que, tal y como podría deducirse directamente de los valores de correlación obtenidos, la covariable que ha resultado como mejor predictora ha sido TOLHEL. El modelo también ha definido otras covariables significativas una vez se ha anulado el efecto de TOLHEL: DUF, LON\_PLA, BIOM5PL, PPAJA\_5 e INDCOS5PL. En total, el modelo ha explicado un 56% del comportamiento diferencial en rendimiento de los genotipos reflejado en el eje IPCA1.

La segunda observación es la definición de covariables predictoras que no han tenido correlaciones directas significativas con el rendimiento, las cuales parecen guardar información independiente de las inicialmente detectadas por correlación directa, y fueron enmascaradas por el efecto de las mismas en las correlaciones directas con el rendimiento. Éstas son BIOM5PL, PPAJA\_5 y LON\_PLA.

Por consiguiente, el rendimiento medio general, queda definido, en cuanto a características genóticas, por TOLHEL, INIFLO, BIOM5PL, PPAJA\_5, DUMAT, LON\_PLA y LON1VAI\_PLA.

Desde un sentido más práctico, el polinomio de la recta de regresión atribuye una pendiente positiva (0,31) a la covariable TOLHEL, es decir, los genotipos que presenten una mayor tolerancia a las heladas, tienden tener un mayor rendimiento considerando el conjunto de todos los ambientes ensayados. Para el resto de covariables, según los signos de las pendientes asociadas a las rectas de regresión, el



ideotipo asociado a un mayor rendimiento medio general es aquella planta con mayor tolerancia a las heladas, con una gran biomasa pero que dé poca paja (lo que se traduce en mayor producción en semilla), y que tiendan a ser altas y a la vez que tengan poca longitud a primera vaina, lo que implica que tengan un mayor número de pisos florales, y en último término, que produzcan un mayor número de vainas. En cuanto a la fenología, al ideotipo se ajustarían aquellas plantas que sean precoces en cuanto a floración y que presenten una duración del periodo de llenado de grano y maduración larga. De esta forma asegura un largo periodo reproductivo, que favorecerá un escape de los estreses producidos por la sequía y los calores típicos del final del ciclo de cultivo.

TABLA 38: Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión factorial para el eje IPCA1 y obtención de parámetros de rectas de regresión.

Paso	Variable Introducida	Variable extraída	Nº var. Introducidas	R <sup>2</sup> Parcial	Modelo R <sup>2</sup>	C(p)	Valor F	Pr > F
1	TOLHEL	-	1	0,2532	0,2532	64,1800	29,50	<0,0001
2	DUF	-	2	0,0410	0,2942	57,9811	5,00	0,0279
3	LON_PLA	-	3	0,1190	0,4132	36,2125	17,24	<0,0001
4	BIOM5PL	-	4	0,0671	0,4804	24,8006	10,85	0,0014
5	PPAJA_5	-	5	0,0642	0,5446	13,9799	11,70	0,0010
6	INDCOS5PL	-	6	0,0237	0,5683	11,2405	4,51	0,0368

Variable	Parámetro estimado	Error estándar	SC Tipo II	Valor F	Pr > F
Término independiente	2,79481	0,51486	2,17460	29,47	<0,0001
LON_PLA	-0,02414	0,00615	1,13823	15,42	0,0002
BIOM5PL	-0,04289	0,00949	1,50597	20,41	<0,0001
DUF	-0,00950	0,00431	0,35885	4,86	0,0302
INDCOS5PL	0,01921	0,00905	0,33256	4,51	0,0368
PPAJA_5	0,04153	0,01038	1,18132	16,01	0,0001
TOLHEL	-0,21372	0,02876	4,07590	55,23	<0,0001

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial; Término independiente: punto de corte de la recta de regresión con el eje de las abscisas; Parámetro estimado: pendiente de la recta de regresión; SC Tipo II: suma de cuadrados tipo II.

TOLHEL: tolerancia a las heladas; DUF: duración de la floración; LON\_PLA: longitud de la planta; BIOM5PL: biomasa producida por planta; PPAJA\_5: peso de la paja producida por planta; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta.

Con esto se deduce que gran parte de las covariables inicialmente definidas como de interés por la significatividad de sus correlaciones encierran en realidad información independiente, presentando unos valores predictivos propios independientes del global de ellas. La única covariable con una correlación directa

## *Resultados y Discusión*

significativa que no ha sido definida como covariable predictora ha sido la altura de la parcela (ALT\_PAR), ya que posiblemente encierra la misma información que la longitud de la planta (LON\_PLA) debido a su gran semejanza.

Igualmente, se han definido tres nuevas covariables predictoras que no presentaron correlaciones directas significativas, la duración de la floración (DUF), el peso de la paja unitario (PPAJA\_5) y el índice de cosecha unitario (INDCOS5PL), las cuales parecen poseer información independiente de las covariables inicialmente detectadas y encubierta por el efecto de éstas en la primera aproximación por correlación directa con el eje IPCA1.

El sentido del eje IPCA1, ya se ha estudiado en puntos anteriores, estando vinculado los ambientes invernales, así como los genotipos más productivos, a valores bajos en dicho eje. Además, los fríos intensos en el desarrollo vegetativo y temperaturas frescas en maduración también están asociados a valores bajos.

Según el modelo, en función de los signos de las pendientes asociadas a las rectas de regresión, el ideotipo asociado, por consiguiente, a valores bajos del eje IPCA1 es aquel tolerante a las heladas, que produzca mucha biomasa y a la vez poca paja (lo que se traduce en más semilla), con bajo índice de cosecha, que tenga gran longitud y una larga duración de la floración. La covariable genotípica que más ha destacado por el valor de su pendiente en comparación con el resto de, al igual que en el rendimiento medio general.

### **4.1.7.4.3.- SEGUNDO EJE DE INTERACCIÓN DEL MODELO AMMI (IPCA2)**

En el eje IPCA2, el modelo de regresión múltiple ha definido hasta tres covariables genotípicas de interés, que llegan a explicar el 38% del modelo. La covariable que ha resultado como mejor predictora ha sido DUMAT. El modelo también ha definido otras dos covariables significativas una vez se ha anulado el efecto de DUMAT (Tabla 39), que no fueron definidas como significativas en la metodología basada en la detección de correlaciones directas con los ejes AMMI. Del resto de

correlaciones detectadas mediante dicha metodología ninguna se ha mantenido una vez eliminado el efecto de DUMAT.

De ello se deduce que tan sólo una de las covariables inicialmente definidas como de interés, DUMAT, presenta un valor predictivo propio; el resto de las inicialmente definidas encierran información común, y ninguna presentó un valor predictivo. Asimismo, se ha conseguido definir dos nuevas covariables, BIOM\_5PL y PPAJA\_5, con influencia en la componente de interacción reflejada en el eje IPCA2, con información independiente de las inicialmente detectadas, y enmascaradas por el efecto de las inicialmente detectadas en la primera aproximación por correlación directa con el eje IPCA2.

TABLA 39: Proceso de selección de covariables genotípicas mediante regresión paso a paso para el eje IPCA2 y obtención de parámetros de rectas de regresión.

Paso	Variable Introducida	Variable extraída	Nº var. Introducidas	R <sup>2</sup> Parcial	Modelo R <sup>2</sup>	C(p)	Valo F r	Pr > F
1	DUMAT	-	1	0,2807	0,2807	1,4421	33,95	<0,0001
2	BIOM5PL	-	2	0,0547	0,3354	-3,1334	7,08	0,0093
3	PPAJA_5	-	3	0,0445	0,3798	-6,4753	6,09	0,0156

Variable	Parámetro estimado	Error estándar	SC Tipo II	Valor F	Pr > F
Término independiente	-1,13735	0,32054	1,03640	12,59	0,0006
BIOM5PL	0,02144	0,00713	0,74450	9,04	0,0035
DUMAT	0,01053	0,00394	0,58719	7,13	0,0091
PPAJA_5	-0,01906	0,00772	0,50155	6,09	0,0156

R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial; Término independiente: punto de corte de la recta de regresión con el eje de las abscisas; Parámetro estimado: pendiente de la recta de regresión; SC Tipo II: suma de cuadrados tipo II.

DUMAT: duración de la madurez total; BIOM5PL: biomasa producida por planta; PPAJA\_5: peso de la paja producida por planta.

De esta forma, el eje IPCA2, queda definido en cuanto a las características genotípicas que puedan motivar comportamientos diferenciales, por tres covariables: la primera, la duración de la madurez total (DUMAT), ha presentado un coeficiente de determinación parcial respecto a la variabilidad en el eje IPCA2 del 28,1%. Las otras dos covariables han sido la biomasa unitaria (BIOM\_5PL) y la producción de paja unitaria (PPAJA\_5), con unos coeficientes de determinación parcial de 5,5y 4,5% respectivamente.

## *Resultados y Discusión*

La duración de la madurez total (DUMAT) sería la covariable genotípica que provocaría un comportamiento diferencial del rendimiento en función de la temperatura mínima de mínima durante la maduración. Esto parece indicar que este eje guarda relación con el periodo de la maduración.

### **4.1.7.4.4.- MODELO DE SELECCIÓN DE LÍNEAS A PARTIR DEL MODELO AMMI**

La identificación mediante regresión factorial de las covariables genotípicas que están más relacionadas con el rendimiento permite calcular la componente genotípica del rendimiento para cada genotipo. De la misma forma, la identificación de las covariables más relacionadas con el eje IPCA1, permite calcular, para cada genotipo, la parte rendimiento debida a la interacción GxE. Así se pueden estimar los rendimientos, para cada genotipo, a partir del modelo AMMI que considera la componente aditiva genotípica del rendimiento, y además, considera la componente de interacción GxE.

Este modelo supone una vía alternativa a la medición directa del rendimiento para cada genotipo, y como tal, permite realizar un estudio de selección de las mejores líneas, las que más rendimiento han dado y de manera más estable, así como realizar un estudio de la rentabilidad del cultivo.

A diferencia del estudio del rendimiento realizado en el punto 4.1.1.-, sólo se ha considerado la población Precoz x WA8649041.

En la Tabla 40 se muestran los diez genotipos que mejor rendimiento estimado han tenido en el conjunto de todos los ambientes. En comparación con el método de Ketata y col. (1989), se aprecia que los ocho que han sido clasificados de rendimiento superior están entre los diez genotipos de mejor rendimiento estimado para el conjunto de todos los ambientes; mostrando un coeficiente de correlación de Pearson de 0,88, indicativo de que el modelo de estimación del rendimiento se ajusta bastante bien a la realidad. Si bien, sólo se han seleccionado tres genotipos mediante el método de Ketata

y col. (1989) que están entre los diez de mejor rendimiento estimado, cuando se comparan rendimientos y la estabilidad de los mismos entre los distintos ambientes.

TABLA 40: Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para el conjunto de todos los ambientes y su comparación con el método de Ketata y col. (1989).

LÍNEAS SELECCIONADAS	Rendimiento estimado	Rendimiento observado	Ketata y col. (1989)	
			Clasificación	Selección
L13_032	2,60	2,18	Inconsistentemente Superior	
L13_033	2,40	2,30	Muy consistentemente Superior	Si
L13_037	2,29	2,02	Consistentemente Superior	
L13_040	2,26	1,78	Muy consistentemente Superior	Si
L13_055	2,23	1,59	Muy inconsistentemente Alto	
L13_073	2,18	1,97	Consistentemente Superior	
L13_036	2,17	1,65	Muy consistentemente Superior	Si
L13_016	2,12	1,55	Muy inconsistentemente Alto	
L13_015	2,10	2,04	Muy inconsistentemente Superior	
L13_064	2,09	1,45	Inconsistentemente Alto	

Coefficiente de correlación de Pearson,  $r = 0,88$

En la Tabla 41, se han considerado el conjunto de ambientes invernales, y la correlación entre ambos métodos ha sido semejante a la del conjunto de todos los ambientes (0,86). Ambos modelos de selección han coincidido en cuanto a la selección de los genotipos, todos los genotipos seleccionados por rendimiento estimado han sido clasificados de rendimiento superior, pero dos de ellos no han sido selección por el método de Ketata y col. (1989) debido a la estabilidad del rendimiento. Al igual que en el conjunto de todos los ambientes, el modelo de estimación del rendimiento se ajusta bastante bien a la realidad.

Para los ambientes de primavera se muestran los genotipos seleccionados en la Tabla 42 entre los que está el parental Precoz. La correlación entre ambos métodos de selección ha sido la menor de los tres conjuntos de ambientes, con un valor de 0,67, y sólo tres de diez genotipos seleccionados han sido clasificados de rendimiento superior, siendo el conjunto de ambientes que peor se ha ajustado la realidad, observando una tendencia a sobreestimar el rendimiento.

## Resultados y Discusión

TABLA 41: Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para los ambientes de invierno y su comparación con el método de Ketata y col. (1989).

LÍNEAS SELECCIONADAS	Rendimiento estimado	Rendimiento observado	Ketata y col. (1989)	
			Clasificación	Selección
L13_032	3,14	3,55	Muy consistentemente Superior	Si
L13_033	3,00	3,47	Muy consistentemente Superior	Si
L13_037	2,82	2,76	Muy consistentemente Superior	Si
L13_055	2,63	2,52	Consistentemente Superior	
L13_092	2,55	3,77	Muy inconsistentemente Superior	
L13_073	2,50	3,04	Muy consistentemente Superior	Si
L13_040	2,43	2,31	Muy consistentemente Superior	Si
L13_015	2,41	3,09	Muy consistentemente Superior	Si
L13_002	2,40	2,19	Muy consistentemente Superior	Si
L13_043	2,36	2,26	Muy consistentemente Superior	Si

Coefficiente de correlación de Pearson,  $r = 0,86$

Para estudiar el interés de la lenteja bajo este modelo de estimación del rendimiento, se ha analizado por un lado el interés del adelanto en la fecha de siembra y por otro lado el interés de la mejora y selección.

TABLA 42: Líneas seleccionadas mediante el rendimiento estimado para los ambientes de primavera y su comparación con el método de Ketata y col. (1989).

LÍNEAS SELECCIONADAS	Rendimiento estimado	Rendimiento observado	Ketata y col. (1989)	
			Clasificación	Selección
L13_040	2,10	1,25	Muy consistentemente Superior	Si
L13_032	2,07	0,82	Muy consistentemente Bajo	
PRECOZ	2,02	1,68	Muy consistentemente Superior	Si
L13_036	2,01	1,02	Inconsistentemente Superior	
L13_083	1,98	1,75	Muy consistentemente Superior	Si
L13_067	1,96	0,91	Muy consistentemente Inferior	
L13_062	1,95	1,18	Muy consistentemente Bajo	
L13_064	1,94	1,09	Muy consistentemente Bajo	
L13_016	1,93	0,93	Inconsistentemente Bajo	
L13_028	1,90	0,94	Inconsistentemente Inferior	

Coefficiente de correlación de Pearson,  $r = 0,67$

En función de los rendimientos medios estimados (Tabla 43), se aprecia que apenas hay diferencias entre los ambientes de invierno y los de primavera en la población Precoz x WA8649041. Entonces el adelanto de la fecha de siembra carecería de interés, si bien, al comparar los rendimientos esperado y observado de los ambientes

de primavera, se acaba de comentar que el modelo presenta una tendencia a la sobreestimación que justificaría esta falta de interés. Es en este punto donde más difiere el modelo de estimación del rendimiento respecto de las mediciones directas del rendimiento.

El interés de la aplicación de la mejora genética en lenteja queda justificado en la Tabla 43, donde se comparan los rendimientos medios estimados de las mejores líneas respecto de los rendimientos observados de los tres mejores testigos (según el método de Ketata y col. 1989). Dentro de los ambientes de invierno se produce un aumento del 63,84% por el hecho de sembrar líneas seleccionadas, y en los ambientes de primavera se observa un aumento del 38,28%.

TABLA 43: Rendimientos medios e incrementos de rendimientos estimados a partir del modelo AMMI.

	GENERAL	INVIERNO	PRIMAVERA
<b>POBLACIÓN COMPLETA:</b>			
Media LRILs PxW	1,48	1,48	1,48
Testigos*	1,10	1,17	1,03
<b>RILs SELECCIONADAS:</b>			
Media LRILs PxW	2,24	2,62	1,99
Testigos*	1,44	1,60	1,44
<b>% INCREMENTO RESPECTO DE LOS TRES MEJORES TESTIGOS:</b>			
Media LRILs PxW	55,25	63,84	38,28
Testigos*	0,00	0,00	0,00
<b>% INCREMENTO RESPECTO DE LOS TRES MEJORES TESTIGOS EN PRIMAVERA:</b>			
Media LRILs PxW	55,65	82,06	38,28
Testigos*	0,26	11,12	0,00

\* los datos de rendimiento de los testigos no son estimados a partir del modelo AMMI, dado que no se incluyeron en el análisis, son datos de rendimiento observado.

Si comparamos los rendimientos estimados de las mejores líneas en invierno, con los tres mejores testigos en primavera (que es cuando se suelen sembrar) se obtiene un aumento del rendimiento del 82,06%, cifra parecida pero algo menor a la obtenida por el método de Ketata y col. (1989), que para la población Precoz x WA 8649041 fue de 98,73%. Por consiguiente, con estos porcentajes de aumento, se justifica la realización de trabajos de mejora genética cara a la obtención de variedades adaptadas a la siembra invernal.

#### **4.1.8.- DEFINICIÓN DE UN MODELO INCLUYENDO INFORMACIÓN GENOTÍPICA Y AMBIENTAL**

##### **4.1.8.1.- REGRESIÓN FACTORIAL CONSIDERANDO COVARIABLES AMBIENTALES Y GENOTÍPICAS**

A partir de todas la covariables ambientales y genéticas seleccionadas se han generado todas las interacciones posibles entre ellas con el fin de incluirlas en un modelo de regresión factorial conjunta, tal y como fue explicado en materiales y métodos (capítulo 3.4.9.1.-). Así, el modelo ha definido las interacciones entre covariables que se muestran en la Tabla 44.

Una vez definidas las interacciones entre covariables más significativas, se ha estudiado su importancia en la interacción GxE y en la descomposición de ésta en función de la fecha de siembra, los ambientes invernales y los ambientes primaverales, como se muestra en la Tabla 44.



TABLA 44: Influencia de las interacciones explicativas entre covariables ambientales y genotípicas sobre la interacción GxE y sus componentes.

INTERACCIÓN	GENOTIPO*AMBIENTE			FECHA*GENOT			AMB(INVI)*GENOT			AMB(PRIM)*GENOT		
	gl	SC	R <sup>2</sup> (%)	gl	SC	R <sup>2</sup> (%)	gl	SC	R <sup>2</sup> (%)	gl	SC	R <sup>2</sup> (%)
	616	1513,78	55,54	88	367,82	24,30	264	929,9	61,43	264	216,06	14,27
<b>CONTRIB. INDIVIDUAL</b>												
DiaHel3_Dv*TOLHEL	1	133,13	8,79	1	132,33	35,98	1	0,00	0,00	1	0,80	0,37
PrecEf_Dv*LON1VAI_PL	1	14,71	0,97	1	0,00	0,00	1	14,18	1,53	1	0,53	0,25
DiaHel6_Dv*PSEM_5	1	62,50	4,13	1	0,00	0,00	1	62,50	6,72	1	0,00	0,00
DiaHel3_Fl*INIFLO	1	1,36	0,09	1	0,00	0,00	1	1,36	0,15	0	0,00	0,00
PrecEf_Fl*INDCOS5PL	1	60,10	3,97	1	0,00	0,00	1	56,85	6,11	1	3,26	1,51
PrecEf_Md*LON1VAI_PL	1	7,35	0,49	1	0,99	0,27	1	2,19	0,24	1	4,17	1,93
RadN_Md*PSEM_5	1	6,22	0,41	1	2,95	0,80	1	2,55	0,27	1	0,72	0,33
<b>TOTAL TEÓRICO</b>	<b>7</b>	<b>285,37</b>	<b>18,85</b>	<b>7</b>	<b>136,27</b>	<b>37,05</b>	<b>7</b>	<b>139,63</b>	<b>15,02</b>	<b>6</b>	<b>9,47</b>	<b>4,38</b>
<b>CONTRIB. POR GR. FENOL.</b>												
DiaHel3_Dv*TOLHEL	1	133,13	8,79	1	132,33	35,98	1	0,00	0,00	1	0,80	0,37
PrecEf_Dv*LON1VAI_PL	1	26,56	1,75	1	12,08	3,28	1	14,27	1,53	1	0,22	0,10
DiaHel6_Dv*PSEM_5	1	138,37	9,14	1	63,07	17,15	1	75,31	8,10	1	0,00	0,00
<b>TOTAL DES. VEGET.(Dv)</b>	<b>3</b>	<b>298,07</b>	<b>19,69</b>	<b>3</b>	<b>207,48</b>	<b>56,41</b>	<b>3</b>	<b>89,57</b>	<b>9,63</b>	<b>3</b>	<b>1,02</b>	<b>0,47</b>
DiaHel3_Fl*INIFLO	1	1,36	0,09	1	0,00	0,00	1	1,36	0,15	0	0,00	0,00
PrecEf_Fl*INDCOS5PL	1	62,94	4,16	1	0,00	0,00	1	59,68	6,42	1	3,26	1,51
<b>TOTAL FLORACIÓN (Fl)</b>	<b>2</b>	<b>64,29</b>	<b>4,25</b>	<b>2</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>2</b>	<b>61,03</b>	<b>6,56</b>	<b>1</b>	<b>3,26</b>	<b>1,51</b>
PrecEf_Md*LON1VAI_PL	1	7,35	0,49	1	0,99	0,27	1	2,19	0,24	1	4,17	1,93
RadN_Md*PSEM_5	1	12,79	0,84	1	6,51	1,77	1	5,97	0,64	1	0,30	0,14
<b>TOTAL MADURACIÓN (Md)</b>	<b>2</b>	<b>20,14</b>	<b>1,33</b>	<b>2</b>	<b>7,50</b>	<b>2,04</b>	<b>2</b>	<b>8,17</b>	<b>0,88</b>	<b>2</b>	<b>4,47</b>	<b>2,07</b>
<b>TOTAL TEÓRICO</b>	<b>7</b>	<b>382,50</b>	<b>25,27</b>	<b>7</b>	<b>214,98</b>	<b>58,45</b>	<b>7</b>	<b>158,78</b>	<b>17,07</b>	<b>6</b>	<b>8,74</b>	<b>4,05</b>
<b>CONTRIB. CONJUNTA</b>												
DiaHel3_Dv*TOLHEL	1	133,13	8,79	1	132,33	35,98	1	0,00	0,00	1	0,80	0,37
PrecEf_Dv*LON1VAI_PL	1	26,56	1,75	1	12,08	3,28	1	14,27	1,53	1	0,22	0,10
DiaHel6_Dv*PSEM_5	1	138,37	9,14	1	63,07	17,15	1	75,31	8,10	1	0,00	0,00
DiaHel3_Fl*INIFLO	1	29,88	1,97	1	0,00	0,00	1	29,88	3,21	0	0,00	0,00
PrecEf_Fl*INDCOS5PL	1	27,60	1,82	1	2,32	0,63	1	18,43	1,98	1	6,85	3,17
PrecEf_Md*LON1VAI_PL	1	14,29	0,94	1	0,00	0,00	1	13,45	1,45	1	0,84	0,39
RadN_Md*PSEM_5	1	44,12	2,91	1	0,00	0,00	1	43,24	4,65	1	0,88	0,41
<b>TOTAL MODELO</b>	<b>7</b>	<b>413,97</b>	<b>27,35</b>	<b>7</b>	<b>209,80</b>	<b>57,04</b>	<b>7</b>	<b>194,58</b>	<b>20,92</b>	<b>6</b>	<b>9,59</b>	<b>4,44</b>

gl: grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación parcial en %.

DiaHel3\_Dv: Número de días de helada por debajo de -3°C durante el desarrollo vegetativo; DiaHel6\_Dv: Número de días de helada por debajo de -6°C durante el desarrollo vegetativo; DiaHel3\_Fl: Número de días de helada por debajo de -3°C durante la floración; PrecEf\_Fl: Precipitación efectiva durante la floración; PrecEf\_Dv: Precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo; RadN\_Md: Radiación neta durante la maduración; PrecEf\_Md: Precipitación efectiva durante la maduración; TOLHEL: tolerancia a las heladas; LON1VAI\_PL: longitud a primera vaina de la planta; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta; INIFLO: inicio de floración ; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta.

## *Resultados y Discusión*

### **Contribución individual**

Se ha considerado el modelo cuando se ha incluido de manera individual cada una de las covariables entre interacciones con el fin de ver cómo contribuye cada interacción. Así, la suma de todas las interacciones entre covariables ha explicado casi un 18,85% de la GxE, empleando tan sólo el 1,14% de los grados de libertad. Las interacciones entre covariables que han destacado por su mayor coeficiente de determinación parcial fueron DiaHel3\_Dv\*TOLHEL, DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5 y PrecEf\_FI\*INDCOS5PL, con un 8,79, 4,13 y 3,97% respectivamente.

DiaHel3\_Dv\*TOLHEL, significa que las diferencias en el rendimiento debido a la tolerancia a las heladas es dependiente de la cantidad de heladas a partir de -3°C también durante el desarrollo vegetativo. Para DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5, implica que el diferencial en el rendimiento debido a la producción de semilla unitaria, es dependiente de las heladas fuertes durante el desarrollo vegetativo, y por último, PrecEf\_FI\*INDCOS5PL, indica la parte del diferencial de rendimiento debida al índice de cosecha que es dependiente de la precipitación efectiva en floración.

Con estos resultados, se aprecia la importancia del frío intenso durante las primeras fases del ciclo de la planta, en la adaptación de los genotipos a los ambientes ensayados, influyendo en la parte de la expresión rendimiento final que es debida a la tolerancia a las heladas y a la producción de semilla por planta. También tiene importancia las precipitaciones durante el periodo de floración, que influyen en la parte del rendimiento que es debida al índice de cosecha.

En lo referente a la interacción ocasionada por el cambio en la fecha de siembra (interacción genotipo x fecha), el conjunto de interacciones entre covariables ha representado un porcentaje de explicación del 37,05% empleando un 7,95% de los grados de libertad, destacando en cuanto a interacciones entre covariables más influyente DiaHel3\_Dv\*TOLHEL, con un coeficiente de determinación parcial del 35,98% (Tabla 44), siendo de nuevo la misma que en la interacción general. El resto de interacciones tienen un coeficiente de determinación parcial por debajo del 1%.

En cuanto al comportamiento diferencial de los genotipos dentro de los inviernos, interacción Genotipo x Amb(Inv), las diez interacciones entre covariables más significativas han conseguido explicar el 15,02% de la interacción GxE, considerando sólo los ambientes de siembra invernal, empleando el 2'65% de los grados de libertad (Tabla 44).

En este caso parecen ser dos las interacciones entre covariables que destacan: DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5 y PrecEf\_FI\* INDCOS5PL, con coeficientes de determinación parcial de 6,72 y 6,11% respectivamente.

En la adaptación de los genotipos a los ambientes invernales, los fríos intensos durante el desarrollo vegetativo influyen sobre la parte del rendimiento final que se debe a la producción de semilla unitaria, y además, las precipitaciones efectivas durante la floración influyen también en la expresión del rendimiento debida al índice de cosecha unitario.

En función de estos resultados lo que marca la diferencia entre los genotipos en los distintos inviernos es el frío intenso durante el desarrollo vegetativo y las precipitaciones durante la floración que interactúan sobre las componentes del rendimiento producción en grano e índice de cosecha.

Para la interacción GxE dentro de los ambientes de siembra primaveral, interacción Genotipo x Amb(Pri), se ha alcanzado un porcentaje de explicación del 4,38% empleando un 2,27% de los grados de libertad, en la interacción de los genotipos a las distintas primaveras (Tabla 44).

Las interacción con mayor coeficiente de determinación parcial ha sido PrecEf\_Md\*LON1VAI\_PL, con un 1,93%, es decir, considerando a ésta como la interacción entre covariables más importante, significa que las diferencias en la expresión final del rendimiento debidas a la longitud a primera vaina, son dependientes de la cantidad de precipitación efectiva durante el llenado y maduración del grano.

## *Resultados y Discusión*

A diferencia de los ambientes invernales, cobra más importancia el periodo de maduración.

### **Contribución por grupos fenológicos**

La inclusión de las interacciones entre covariables en el modelo siguiendo un criterio ontológico, nos permite ver qué periodos fenológicos tienen más importancia en la interacción GxE y sus componentes. Así el modelo ha explicado el 25,27% de la interacción GxE empleando el 1,14% de los grados de libertad, explicando por este criterio más que por el modelo que considera la contribución individual de las interacciones entre covariables (Tabla 44).

El periodo del desarrollo vegetativo es el que más explica en la interacción GxE, seguido de la floración y por último de la maduración, con coeficientes de determinación parcial de 16,69, 4,25 y 1,33% respectivamente. Las interacciones entre covariables que más explican han sido las mismas que en el modelo que ha considerado la inclusión de covariables de forma individual.

En la adaptación a la fecha de siembra (interacción genotipo x fecha) destaca notablemente el coeficiente de determinación parcial del desarrollo vegetativo (56,41%), mientras que el periodo de floración ha tenido una influencia completamente nula. El periodo de maduración ha tenido un coeficiente de determinación parcial de 2,04%. El gran peso que tiene el desarrollo vegetativo en la adaptación a la fecha de siembra se podría deber al hecho de que es durante este periodo donde hay más diferencias entre ambas fechas de siembra, ya que según avanza el ciclo las diferencias en cuanto a fenología van disminuyendo hasta la fecha de recolección, que prácticamente es semejante entre ambas fechas de siembra. La interacción entre covariables que ha destacado claramente, al igual que en la contribución individual, ha sido DiaHel3\_Dv\*TOLHEL.

El modelo que considera la contribución por grupos fenológicos ha explicado más que el que considera la contribución individual de las interacciones, 58,45% frente a 37,05%.

Frente al comportamiento diferencial de los genotipos en los inviernos, interacción Genotipo x Amb(Inv), vuelve a ser el desarrollo vegetativo el periodo que más explica, aunque no de la manera tan notable como en la adaptación a la fecha de siembra, un 9,63 %. El periodo de floración tiene casi tanto peso como el desarrollo vegetativo, un 6,56%, mientras que la maduración ha resultado ser el periodo con menor importancia en esta interacción, 0,88% (Tabla 44).

En la adaptación de los genotipos dentro de los ambientes de primavera, Genotipo x Amb(Prim), la situación es inversa respecto de los ambientes invernales. Es el periodo de maduración el que tiene un coeficiente de determinación parcial mayor, de 2,07%, seguido del de floración y desarrollo vegetativo, con un 1,51 y 0,47% respectivamente.

### **Contribución conjunta de las interacciones entre covariables**

Se ha considerado un modelo con la inclusión conjunta de las siete interacciones entre covariables, que ha explicado casi un 27,35% de la GxE, empleando tan sólo el 1,14% de los grados de libertad. Las interacciones entre covariables que han destacado por su mayor coeficiente de determinación parcial fueron DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5 y DiaHel3\_Dv\*TOLHEL, con un 9,14 y un 8,79% respectivamente (Tabla 44).

Respecto a estas dos interacciones, en sentido práctico, DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5, significa que el diferencial en el rendimiento debido a la producción de semilla unitaria, es dependiente de las heladas fuertes durante el desarrollo vegetativo, DiaHel3\_Dv\*TOLHEL, significa que las diferencias en el rendimiento debido a la tolerancia a las heladas es dependiente de la cantidad de heladas a partir de -3°C también durante el desarrollo vegetativo.

Se pone de manifiesto la importancia del frío intenso durante las primeras fases del ciclo de la planta, en la adaptación de los genotipos a los ambientes ensayados, influyendo en la parte de la expresión rendimiento final que es debida a la tolerancia a las heladas y a la producción de semilla por planta.

## *Resultados y Discusión*

En lo referente a la interacción ocasionada por el cambio en la fecha de siembra, el conjunto de interacciones entre covariables ha representado un porcentaje de explicación del 57,04% empleando un 7,95% de los grados de libertad, destacando en cuanto a interacciones entre covariables más influyente  $\text{DiaHel3\_Dv}*\text{TOLHEL}$  y  $\text{DiaHel6\_Dv}*\text{PSEM\_5}$ , con un coeficiente de determinación parcial del 35,98 y 17,5% respectivamente (Tabla 44), siendo de nuevo las mismas interacciones entre covariables que en la interacción general. El resto de interacciones tienen un coeficiente de determinación menor.

En cuanto al comportamiento diferencial de los genotipos dentro de los inviernos, las diez interacciones entre covariables más significativas han conseguido explicar el 20,92% de la interacción GxE, considerando sólo los ambientes de siembra invernal, empleando el 2'65% de los grados de libertad (Tabla 44).

En este caso destaca  $\text{DiaHel6\_Dv}*\text{PSEM\_5}$ , con un coeficiente de determinación parcial de 8,10%. En la adaptación de los genotipos a los ambientes invernales, los fríos intensos durante el desarrollo vegetativo influyen sobre la parte del rendimiento final que se debe a la producción de semilla unitaria.

Para la interacción GxE dentro de los ambientes de siembra primaveral, se ha alcanzado un porcentaje de explicación del 4,44% empleando un 2,27% de los grados de libertad, en la interacción de los genotipos a las distintas primaveras (Tabla 44). Este valor (4,44%) ha resultado ser el menor de las componentes de la interacción GxE.

Las interacción con mayor coeficiente de determinación parcial ha sido  $\text{PrecEf\_Md}*\text{LON1VAI\_PL}$ , con un 3,17%, es decir, considerando a ésta como la interacción entre covariables más importante, significa que las diferencias en la expresión final del rendimiento debidas a la longitud a primera vaina, son dependientes de la cantidad de precipitación efectiva durante el llenado y maduración del grano.

**4.1.8.2.- SENSIBILIDAD DE LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS FRENTE A CAMBIOS EN LOS CONDICIONANTES AMBIENTALES**

Desde la Tabla 45 hasta la Tabla 51, aparece el resultado de la sensibilidad o influencia sobre el rendimiento de la covariable genotípica para cada nivel de expresión de la covariables ambiental con la que interacciona.

DiaHel3\_Dv\*TOLHEL (Número de días de helada menor de -3°C durante del desarrollo vegetativo \* Tolerancia a las heladas)

TABLA 45: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel3\_Dv\*TOLHEL.

DiaHel3_Dv=	TOLHEL	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t	
0	Término ind	1	0,98389	0,05206	18,90	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,25788	0,01337	-19,29	<0,0001	*
4	Término ind	1	0,65134	0,05208	12,51	0,0002	*
	Pendiente	1	-0,16840	0,01337	-12,59	0,0002	*
13	Término ind	1	-0,48043	0,05736	-8,38	0,0011	*
	Pendiente	1	0,11986	0,01473	8,14	0,0012	*
20	Término ind	1	-0,52290	0,15905	-3,29	0,0303	ns
	Pendiente	1	0,11943	0,04084	2,92	0,0431	ns
21	Término ind	1	-0,74791	0,07860	-9,52	0,0007	*
	Pendiente	1	0,21128	0,02018	10,47	0,0005	*
25	Término ind	1	-1,18667	0,09312	-12,74	0,0002	*
	Pendiente	1	0,31249	0,02391	13,07	0,0002	*

Término ind: término independiente; gl: grados de libertad; ns: no significativo.  
DiaHel3\_Dv: número de días de helada menor de -3°C durante el desarrollo vegetativo;  
TOLHEL: tolerancia a las heladas.

Según se observa en la Tabla 45, conforme va aumentando DiaHel3\_Dv, se observa que la pendiente de las rectas de regresión, para los residuales del rendimiento en función de TOLHEL, van pasando de negativas (-0,26 cuando no hay días de heladas) a positivas (0,31 con 25 días de helada).

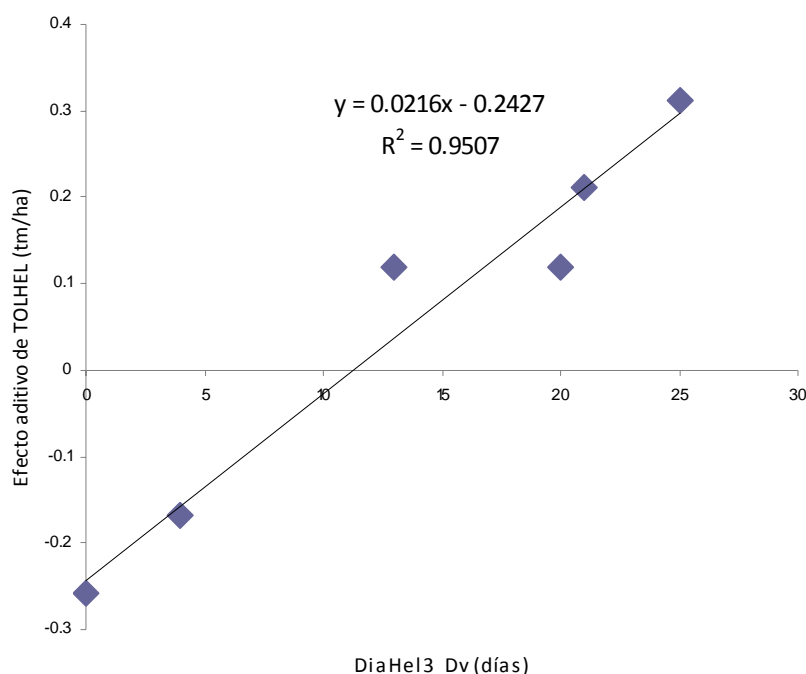
Esto significa que, en la población de estudio, los genotipos más tolerantes tienden a producir menos cuando hay pocas heladas menores de -3°C durante el desarrollo vegetativo, es decir, producen menos en ambientes de primavera. Sin

## Resultados y Discusión

embargo, las pendientes pasan a tener signo positivo cuando los días de helada menores de -3°C aumentan.

De manera semejante a Malosetti y col. (2004), se cuantifica el efecto sobre el rendimiento, del cambio en una unidad de una covariable genotípica por cada cambio de una unidad de una covariable ambiental. Así, en la Figura 15, se aprecia el aumento del rendimiento debido a la tolerancia a las heladas cuando ésta interactúa con el número de días de helada por debajo de -3°C durante el desarrollo vegetativo, de tal forma que, para la población estudiada en los ambientes ensayados, por cada día de heladas que se produce, el aumento en el nivel de tolerancia produce un incremento en el rendimiento de 21,6 kg/ha. Así, los genotipos con mayor nivel de tolerancia a las heladas producirán más en los ambientes donde sean más frecuentes las heladas por debajo de -3°C.

FIGURA 15: Efecto aditivo de la tolerancia a las heladas sobre el rendimiento en función del número de días de heladas por debajo de -3°C durante el desarrollo vegetativo.





PrecEf\_Dv\*LON1VAI\_PLA (Precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo \* Longitud a primera vaina).

En la Tabla 46, se aprecia que existe una relación entre el aumento de la precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo y las pendientes de las rectas de regresión, de tal forma que cuanto más precipitación efectiva haya durante el desarrollo vegetativo, las pendientes de las rectas de regresión pasan de ser positivas a ser negativas.

Los genotipos con mayores longitudes a primera vaina se ven favorecidos en ambientes con menor precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo, y los genotipos con poca longitud a primera vaina se ven favorecidos en ambientes con mayor precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo.

TABLA 46: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf\_Dv\*LON1VAI\_PLA.

PrecEf_Dv=	LON1VAI_PLA	Gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t
15,27	Término ind	1	-0,35438	0,00816	-43,42	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,02082	0,00044	47,26	<0,0001 *
23,08	Término ind	1	-0,23000	0,00529	-43,46	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01351	0,00029	47,31	<0,0001 *
24,76	Término ind	1	-0,25001	0,00691	-36,20	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01470	0,00037	39,43	<0,0001 *
34,83	Término ind	1	-0,02542	0,00529	-4,80	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,00149	0,00029	5,22	<0,0001 *
44,52	Término ind	1	0,14329	0,00529	27,08	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,00842	0,00029	-29,49	<0,0001 *
48,31	Término ind	1	0,14842	0,00978	15,18	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,00871	0,00053	-16,52	<0,0001 *
50,21	Término ind	1	0,21628	0,00117	185,50	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,01271	0,00006	-201,90	<0,0001 *
59,16	Término ind	1	0,35182	0,00619	56,85	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,02067	0,00033	-61,88	<0,0001 *

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.

PrecEf\_Dv: precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina de la planta.

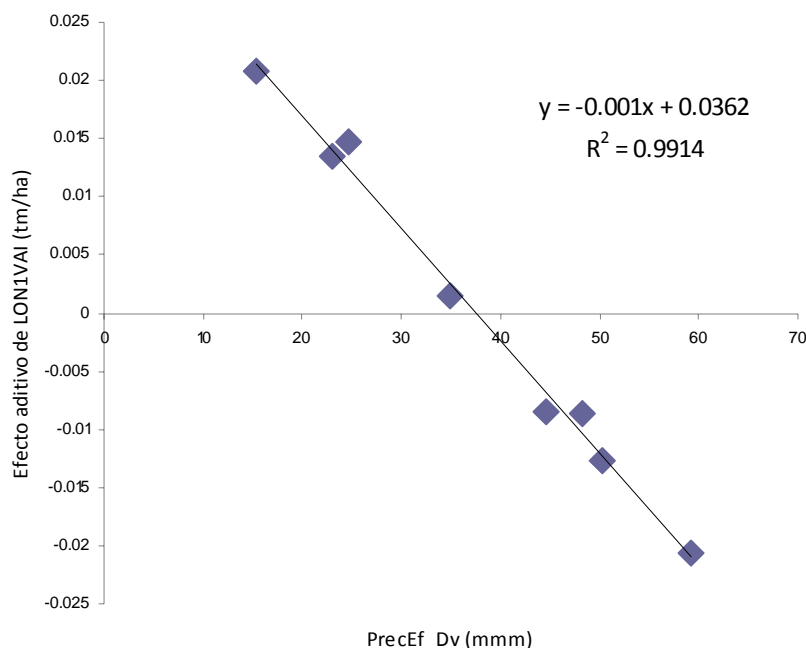
En la Figura 16 se muestra que cuanto más precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo, las plantas más altas tienden a producir menos, tal que por cada

## Resultados y Discusión

milímetro de precipitación, un centímetro más de altura a primera vaina produce una disminución del rendimiento de 1 kg/ha. El factor de ajuste de la recta de regresión ha sido muy alto, de 0,99.

En esta interacción resulta curioso que cuanto más agua reciba una planta alta (referido a longitud a primera vaina), menos produzca, cuando el agua es uno de los principales factores de producción y el principal factor limitante de la producción.

FIGURA 16: Efecto aditivo de la longitud a primera vaina sobre el rendimiento en función la precipitación efectiva durante el desarrollo vegetativo.



Las plantas cuya longitud a primera vaina es alta suelen ser las plantas que florecen más tarde (el coeficiente de correlación de Pearson entre el inicio de la floración y la longitud a primera vaina es de 0,68), por lo que se ven más afectadas por la sequía terminal del final del ciclo. Una mayor cantidad de lluvias en el desarrollo vegetativo, que suelen ir acompañada de temperaturas más bajas, retrasaría la entrada en floración, y por consiguiente, las plantas más tardías sufrirían más los efectos de la sequía terminal, traduciéndose en un mayor descenso del rendimiento (los coeficientes

de correlación de Pearson entre el rendimiento y la longitud a primera vaina y el inicio de floración son de -0,39 y -0,41 respectivamente).

DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5 (Número de días de helada a partir de -6°C durante el desarrollo vegetativo \* Producción se semilla por planta)

Según aumenta el número de días de heladas fuertes durante el desarrollo vegetativo (DiaHel6\_Dv), las pendientes de la rectas de regresión que relacionan el rendimiento en función de la producción de semilla por planta (PSEM\_5), pasan a ser positivas. Por consiguiente, aquellos genotipos con mayor producción de semillas unitario, van a ser más productivos en ambientes donde haya más días de helada de a partir de -6°C durante el desarrollo vegetativo, ambientes invernales. Y aquellos genotipos con menor rendimiento unitario, van a ser más productivos en ambientes donde haya menos días de helada de hasta -6°C durante el desarrollo vegetativo, ambientes primaverales (Tabla 47).

TABLA 47: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel6\_Dv\*PSEM\_5.

DiaHel6_Dv=	PSEM_5	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t	
0	Término ind	1	0,26702	0,01379	19,36	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,02130	0,00099	-21,42	<0,0001	*
1	Término ind	1	0,16125	0,02107	7,65	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,01296	0,00152	-8,53	<0,0001	*
2	Término ind	1	-0,20776	0,01986	-10,46	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,01654	0,00143	11,56	<0,0001	*
6	Término ind	1	-1,28858	0,02974	-43,33	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,10294	0,00214	48,01	<0,0001	*

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión  
gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.

DiaHel6\_Dv: número de días de helada menor de -6°C durante el desarrollo vegetativo; PSEM\_5: `peso de la semilla producida por planta.

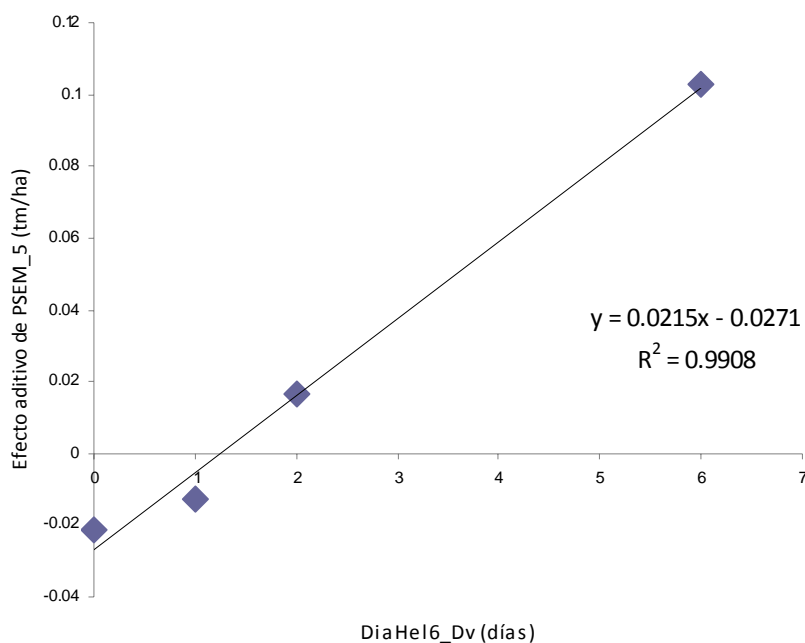
En función de los parámetros estimados, la expresión del diferencial del rendimiento debida a la tolerancia a las heladas depende del número de días de heladas por debajo de -6°C durante el desarrollo vegetativo, tal que los genotipos más productivos se ven favorecidos en los ambientes con mayor número de días de fuertes heladas. En los ambientes con ausencia de heladas fuertes en el desarrollo vegetativo,

## Resultados y Discusión

los genotipos con menor producción de semilla por planta se ven favorecidos frente a los que tienen mayor producción de semilla unitaria.

En la Figura 17 se visualiza la relación que guardan ambas covariables y los efectos sobre el rendimiento que producen al interaccionar ambas, con un coeficiente de ajuste de 0,99. Cada día de helada fuerte durante el desarrollo vegetativo, se traduce en un aumento del rendimiento de 21,5 kg/ha por cada gramo que se aumenta de producción de semilla unitaria (PSEM\_5), o dicho de otra manera, los genotipos más productivos se ven favorecidos por los días de heladas fuertes durante el desarrollo vegetativo, siendo más frecuentes éstas en los ambientes de fecha de siembra invernal. Por consiguiente esta interacción puede ser un indicativo del aumento de rendimiento producido por el adelanto de la fecha de siembra.

FIGURA 17: Efecto aditivo de la producción de semillas por planta sobre el rendimiento en función del número de días de helada menor de -3°C durante el desarrollo vegetativo.



DiaHel3\_Fl\*INIFLO (Número de días de helada menor de -3°C durante la floración \* Inicio de floración).

En función de lo que se aprecia en la Tabla 48, el aumento de los días de helada a partir de -3°C durante la floración provoca un cambio en las pendientes de las rectas de regresión, tal que, los ambientes que carecen de heladas a partir de -3°C en floración favorecen a los precoces, y en el caso opuesto, en los ambientes con presencia de heladas a partir de -3°C durante el periodo de floración, se ven favorecidos los genotipos con más tardíos en cuanto a fecha de floración.

TABLA 48: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción DiaHel3\_Fl\*INIFLO.

DiaHel3_Fl=	INIFLO	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t
0	Término ind	1	0,26137	0,01884	13,87	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,00206	0,00015	-13,98	<0,0001 *
2	Término ind	1	-1,82956	0,13191	-13,87	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01444	0,00103	13,98	<0,0001 *

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.  
DiaHel3\_Fl: número de días de helada menor de -3°C durante la floración;  
INIFLO: inicio de floración.

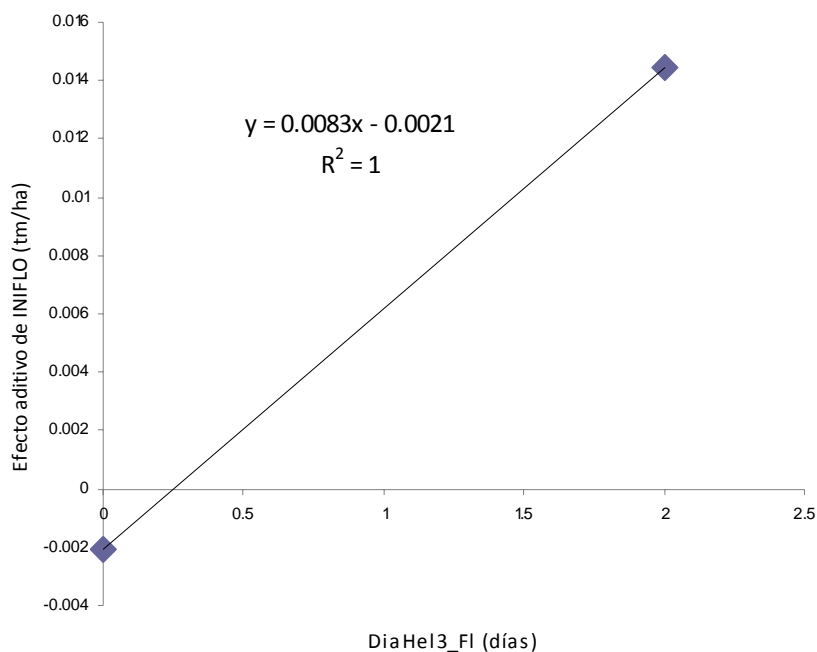
Así, en los ambientes más suaves, donde no hiele durante la floración, los genotipos más precoces se ven favorecidos, ya que se evita una disminución del rendimiento al no sufrir daños provocados por la helada y tener un periodo de floración más largo. Por otro lado, la presencia de heladas de cierta severidad en primavera, determina que aquellos genotipos que hayan comenzado a florecer, sufran los efectos negativos de las mismas, mientras que los genotipos que escapan a estas heladas evitan la disminución del rendimiento provocada por los daños producidos en las flores por parte de las heladas.

En la Figura 18 se muestran cómo interaccionan ambas covariables consideradas y la influencia sobre el rendimiento. De este modo, por cada día de helada menor de -

## Resultados y Discusión

3°C durante la floración, un retraso de un día en la fecha de floración, se traduce en un aumento de 8,3 kg/ha.

FIGURA 18: Efecto aditivo del inicio de floración sobre el rendimiento en función del número de días de helada menor de -3°C durante la floración.



### PrecEf FI\*INDCOS5PL (Precipitación efectiva en floración \* Índice de cosecha por planta)

Como se aprecia en la Tabla 49, según se aumenta la precipitación efectiva durante la floración, la recta de regresión del índice de cosecha pasa a tener pendiente positiva, lo que significa que los genotipos con un alto índice de cosecha tienden a tener un rendimiento mayor en ambientes donde las precipitaciones efectivas durante la floración son mayores. Y en los ambientes con menor cantidad de precipitación efectiva durante la floración se ven favorecidos los genotipos con bajo índice de cosecha.

Por cada milímetro de precipitación efectiva durante la floración, un aumento de una unidad en el índice de cosecha, se traduce en un aumento de 0,4 kg/ha, como se

puede apreciar en la pendiente positiva de la recta de regresión de la Figura 19, con un  $R^2$  de 0,84.

TABLA 49: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf\_Fl\*INDCOS5PL.

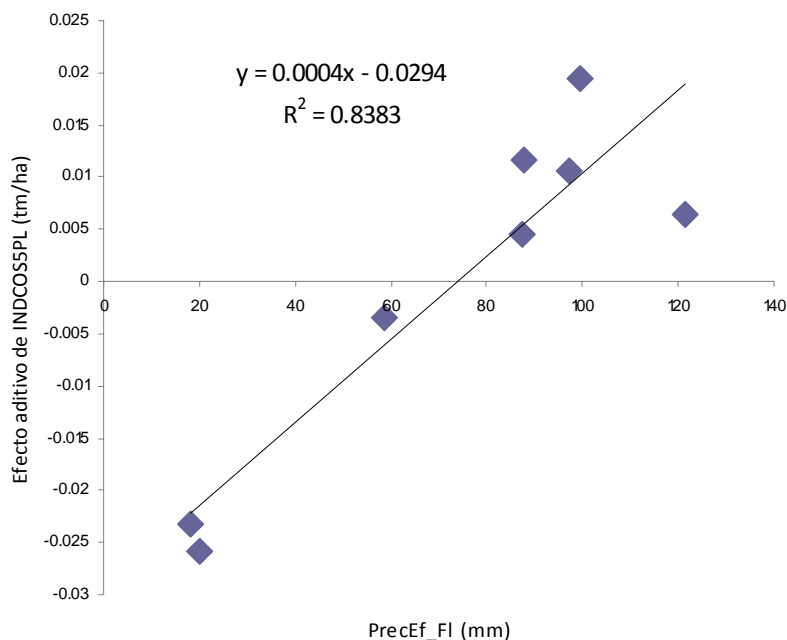
PrecEf_Fl=	INDCOS5PL	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valort	Pr >  t
18,02	Término ind	1	0,37429	0,00799	46,83	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,02328	0,00047	-49,91	<0,0001 *
20,22	Término ind	1	0,41539	0,00495	83,87	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,02583	0,00029	-89,38	<0,0001 *
58,59	Término ind	1	0,05461	0,00577	9,46	<0,0001 *
	Pendiente	1	-0,00339	0,00034	-10,05	<0,0001 *
87,3	Término ind	1	-0,07247	0,00482	-15,04	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,00450	0,00028	16,02	<0,0001 *
87,92	Término ind	1	-0,18594	0,00542	-34,31	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01158	0,00032	36,61	<0,0001 *
97,14	Término ind	1	-0,17132	0,00431	-39,78	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01066	0,00025	42,43	<0,0001 *
99,55	Término ind	1	-0,31114	0,00665	-46,76	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,01937	0,00039	49,89	<0,0001 *
121,41	Término ind	1	-0,10341	0,02332	-4,44	<0,0001 *
	Pendiente	1	0,00638	0,00136	4,69	<0,0001 *

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión  
 gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.  
 PrecEf\_Fl: precipitación efectiva en floración; INDCOS5PL: índice de cosecha por planta.

En esta interacción se ve la importancia de las precipitaciones durante la floración, especialmente en los genotipos que presentan un mayor índice de cosecha, ya que tienen más necesidades para formar y desarrollar correctamente sus semillas.

## Resultados y Discusión

FIGURA 19: Efecto aditivo del índice de cosecha por planta sobre el rendimiento en función de la precipitación efectiva durante la floración.



### PrecEf\_Md\*LON1VAI\_PLA (Precipitación efectiva durante la maduración \* Longitud a primera vaina de la planta)

En función de los resultados que se muestran en la Tabla 50, considerando los casos que han sido significativos, hay una tendencia a que según aumenta la precipitación efectiva durante la maduración, las pendientes de las rectas de regresión pasan a tener signos cada vez más negativos, si bien en el caso de nula precipitación efectiva esta tendencia no se cumple al tener menor valor la pendiente que en el caso de 7,89 mm de precipitación efectiva. Por tanto, en los ambientes con mayores precipitaciones durante el periodo de maduración se ven favorecidos los genotipos con menor longitud a primera vaina. Como ya se ha comentado anteriormente, los genotipos de menor longitud a primera vaina suelen ser los más precoces, así las precipitaciones permitirían evitar la sequía terminal así como permitir a la planta realizar un correcto formación y llenado de grano.



En función de la pendiente de regresión de la Figura 20, por cada milímetro de precipitación efectiva durante la maduración, el rendimiento disminuye 0,6 kg/ha, por cada centímetro que aumenta la longitud a primera vaina.

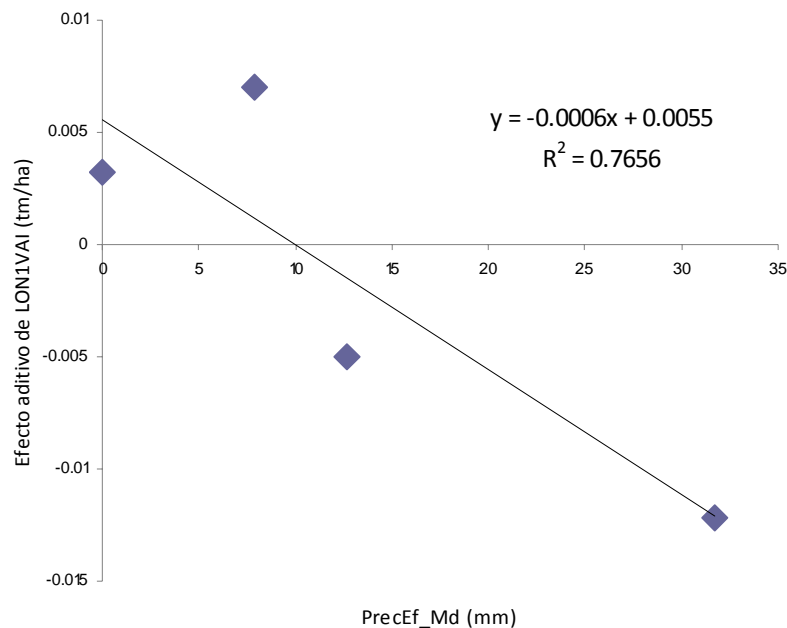
TABLA 50: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción PrecEf\_Md\*LON1VAI\_PLA.

PrecEf_Md=	LON1VAI_PLA	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t	
0	Término ind	1	-0,05480	0,00152	-36,04	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,00322	0,00008	39,24	<0,0001	*
3,75	Término ind	1	0,00023	0,00593	0,04	0,9698	ns
	Pendiente	1	-0,00003	0,00032	-0,09	0,9263	ns
7,89	Término ind	1	-0,11904	0,00205	-58,08	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,00699	0,00011	63,19	<0,0001	*
12,68	Término ind	1	0,08484	0,00393	21,59	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,00497	0,00021	-23,46	<0,0001	*
18,02	Término ind	1	-0,00838	0,00594	-1,41	0,1618	ns
	Pendiente	1	0,00049	0,00032	1,52	0,1315	ns
31,72	Término ind	1	0,20677	0,00533	38,82	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,01214	0,00029	-42,22	<0,0001	*

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.

PrecEf\_Md: precipitación efectiva durante la maduración; LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina de la planta.

FIGURA 20: Efecto aditivo del índice de la longitud a primera vaina sobre el rendimiento en función de la precipitación efectiva durante la maduración.



## Resultados y Discusión

### RadN\_Md\*PSEM\_5 (Radiación neta durante la maduración \* Producción se semilla por planta)

En esta interacción, las pendientes de las rectas de regresión van tomando valores negativos a medida que los valores de la radiación neta en maduración son más altos (Tabla 51), lo que significa que los genotipos con baja producción de semilla unitaria se ven favorecidos en ambientes con mayores cantidades de radiación, y viceversa. En la Figura 21 se refleja este resultado cuantificado, tal que, el aumento de 1 MJ/m<sup>2</sup> en maduración se traduce en una disminución del rendimiento de 50 gramos por hectárea, por cada gramo que se aumenta la producción unitaria por planta.

TABLA 51: Comportamiento del rendimiento debido a variaciones entre las covariables que forman la interacción RadN\_Md\*PSEM\_5.

RadN_Md=	PSEM_5	gl	Parámetro Estimado	Error estándar	Valor t	Pr >  t	
0	Término ind	1	-0,38171	0,01222	-31,22	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,03051	0,00088	34,62	<0,0001	*
427,54	Término ind	1	-0,09052	0,00649	-13,95	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,00723	0,00047	15,46	<0,0001	*
505,01	Término ind	1	-0,02031	0,01401	-1,45	0,1507	ns
	Pendiente	1	0,00163	0,00101	1,62	0,1100	ns
552,57	Término ind	1	-0,03470	0,00700	-4,95	<0,0001	*
	Pendiente	1	0,00276	0,00050	5,47	<0,0001	*
703,79	Término ind	1	0,14148	0,01665	8,49	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,01134	0,00120	-9,44	<0,0001	*
756,28	Término ind	1	0,06815	0,00706	9,66	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,00543	0,00051	-10,67	<0,0001	*
831,51	Término ind	1	0,13970	0,00665	21,02	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,01116	0,00048	-23,30	<0,0001	*
983,53	Término ind	1	0,17792	0,01880	9,46	<0,0001	*
	Pendiente	1	-0,01420	0,00136	-10,48	<0,0001	*

Término ind: término independiente; Pendiente: pendiente de la recta de regresión  
gl: grados de libertad; \*: significativo; ns: no significativo.

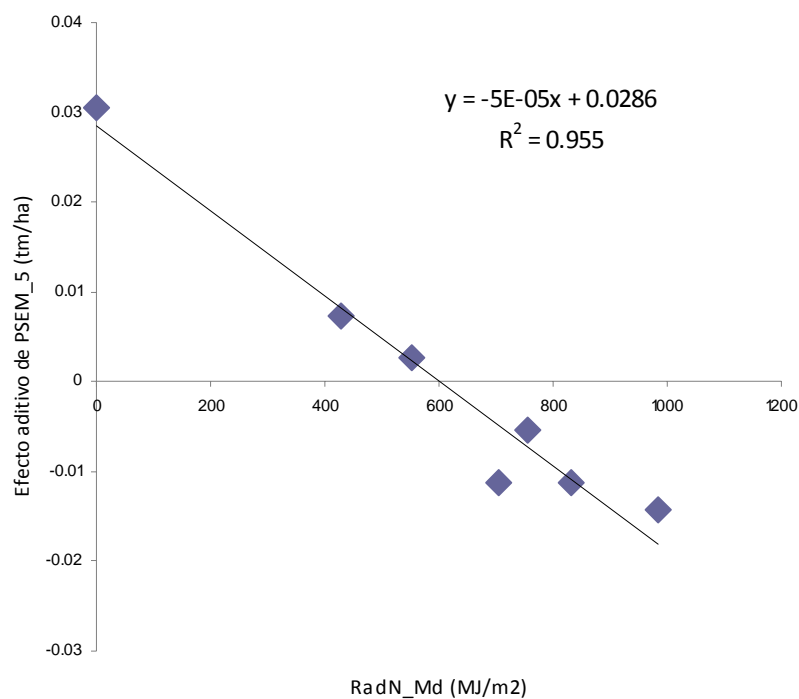
RadN\_Md: radiación neta durante la maduración; PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta.

Resulta curioso que cuanto más energía reciban, los genotipos más productivos tiendan a disminuir el rendimiento, cuando la radiación que reciben los cultivos supone unos de los principales factores de producción, y *a priori* cabría esperar lo contrario a lo que se ha obtenido.

Ney y Duc (1997) observaron que el adelanto de la fecha de siembra optimizaba el índice de radiación/temperatura durante la floración, pues al adelantarse la siembra, la temperatura media suele ser más suave, aumentando la duración del periodo reproductivo en lo que a formación de flores se refiere, así como también se incrementa la duración del periodo de formación del grano.

Una posible explicación sería algo semejante a lo que observaron Ney y Duc (1997), el índice de radiación/temperatura en maduración puede que no esté en su nivel óptimo, y lo que nos indicaría la radiación son los efectos de la sequía terminal que sufre el cultivo durante la maduración, donde los genotipos más productivos son más sensibles a la sequía terminal, puesto que tienen más que perder que los menos productivos.

FIGURA 21: Efecto aditivo de la producción de semilla por planta sobre el rendimiento en función de la radiación neta durante la maduración.



#### 4.2.- SEGREGACIÓN DE MARCADORES, ANÁLISIS DE LIGAMIENTO Y CONSTRUCCIÓN DEL MAPA GENÉTICO

En la Tabla 52 se muestran los resultados de los marcadores moleculares empleados en el presente trabajo. Además se incluyeron tres marcadores morfológicos relativos a características de la semilla: color del cotiledón, color primario y color secundario de la semilla.

TABLA 52: Rendimiento polimórfico de los marcadores incluidos en el análisis de ligamiento.

Tipo de cebador	Referencia	Nº de cebadores probados	Nº de cebadores amplificados	Nº de loci polimórficos
SSR	Hamwiesh y col. 2005 Hamwiesh y col.2009	44	44	21
SSR	Durán y col.2004	5	0	0
SSR	Závodná y col.2000	5	0	0
SSR	Pandian y col.2000	14	14	0
SSR	Choumane y col.2004	64	14	0
SSR	Burstin y col.2001	43	43	0
SSR	Loridon y col.2005	248	248	2
ISSR	Kahraman y col.2004b Muehlbauer y col.2004	100	100	17
ISSR	Závodná y col.2000	4	0	0
RADP	Eujayl y col.1999	1	1	0
RADP	Kahraman y col.2004b	10	10	0
Minisatélites	Závodná y col.2000	11	0	0
Morfológicos	-	3	3	3
MFLP	Yang y col.2001	5 comb.	5 comb.	92
AFLP	Vos y col.1995	10 comb.	10 comb.	298

comb.: combinaciones.

La aplicación de los marcadores moleculares seleccionados, tras la realización de una búsqueda de aquellos publicados y usados en lenteja o especies afines, ha producido diferentes rendimientos. Por ejemplo, de los 44 microsatélites publicados por Hamwiesh y col. (2005, 2009) se obtuvieron un total de 21 marcadores polimórficos en

la población, y de las diez combinaciones de AFLPs se han obtenido un total de 299 loci polimórficos. En el caso opuesto, de entre los marcadores moleculares publicados por otros autores (Tabla 52), como Zavodná y col. (2000), Pandian y col. (2000) o Choumane y col. (2004), no se obtuvo ningún cebador polimórfico en la población, bien porque resultaron monomórficos, a pesar de dar lugar a patrones de bandas perfectamente interpretables, bien porque producían un patrón de bandas no repetible en cada ensayo, bien porque ese patrón fue imposible de interpretar de manera fiable. Uno de los casos con menor rendimiento fue la aplicación de microsatélites desarrollados para guisante (Loridon y col. 2005), ya que de casi 250 cebadores analizados tan sólo se pudieron utilizar dos marcadores polimórficos en la población segregante.

Saha (2010) realizó un mapa genético en el que uno de los parentales de la población segregante también era Precoz, aplicó un total de 156 SSRs de lenteja, entre los que estaban también los del ICARDA, y obtuvo un porcentaje de polimorfismo del 17,3%, mientras que con SSRs de guisante curiosamente obtuvo un porcentaje de polimorfismos del 64%. En el presente trabajo, a partir de 44 SSRs de lenteja se han obtenido 21 SSRs polimórficos, lo que significa un porcentaje de polimorfismo del 42,9%, rendimiento mayor que el de Saha (2010), en cambio el rendimiento obtenido con los SSRs de guisante dista mucho del obtenido por Saha (2010).

Mención especial merece el mapa genético de lenteja publicado por Tanyolac y col. (2010) a partir de la misma población objeto de estudio en esta tesis, Precoz x WA8649041. Para ello, emplearon marcadores RAPDs, AFLPs e ISSRs. A partir de 40 combinaciones de AFLPs obtuvieron 391 loci, de los cuales 180 los consideraron polimórficos, mientras que en este trabajo se han obtenido 299 loci polimórficos a partir de diez combinaciones, cifras muy dispares que probablemente se deban a los diferentes métodos empleados para analizar los productos PCR, mientras que ellos emplearon geles de acrilamida y un analizador LiCor, nosotros analizamos los productos mediante electroforesis capilar.

Con los RAPDs obtuvieron 116 marcadores polimórficos, mientras que en el presente trabajo no se obtuvo ningún RAPD que fueran lo suficientemente robusto para ser incluido en el mapa. Sin duda, esta diferencia se debe en primer lugar al mayor

## *Resultados y Discusión*

esfuerzo realizado por Tanyolac y col. (2010) con los RAPDs, ya que partieron de 384 cebadores frente a los 11 de partida del presente trabajo. En nuestro caso, debido al problema habitual en la obtención de bandas repetibles y fiables típico de la metodología RAPD, se decidió desde un principio limitar los esfuerzos con este tipo de marcadores y dedicarlos a otros tipos, como pueden ser los SSRs.

El rendimiento que obtuvieron con los ISSRs fue superior al obtenido en el presente trabajo, pues consiguieron 18 marcadores polimórficos a partir de 25 cebadores iniciales, frente a los 17 ISSRs polimórficos a partir de 100 iniciales (Tabla 52). Esta diferencia de rendimiento posiblemente se deba a la diferencia de métodos empleados para visualizar los productos amplificados así como los diferentes productos empleados para realizar la PCR.

En cuanto a los MFLPs, se han obtenido a partir de las cinco combinaciones de cebadores un total de 92 loci polimórficos, es decir, una media de 12,4 loci por combinación. No se ha podido comparar este rendimiento con otros trabajos en lenteja dado que, hasta donde tenemos constancia, es el primer trabajo en que se han aplicado MFLPs en lenteja. En trabajos realizados con MFLPs aplicados en otras leguminosas grano, Caminero y col. (2006), en cruzamientos intraespecíficos de especies de leguminosas cultivadas y usando un total de 42 combinaciones de MFLPs, obtuvieron medias desde 32,26 loci polimórficos por combinación en guisante (*Pisum sativum*), hasta 22,50 en garbanzo (*Cicer arietinum*), pasando por 29,74 en alberjón (*Vicia narbonensis*), 27,19 en titarro (*Lathyrus cicera*) o 25,24 en almorta (*Lathyrus sativa*), lo que supone rendimientos por combinación muy superiores al obtenido en el presente trabajo. Este hecho puede ser debido en primer lugar a las diferentes especies consideradas en cada trabajo y a las combinaciones específicas de MFLPs utilizadas. Se debe mencionar que dichos autores critican sus propios resultados en cuanto a la resolución real de los polimorfismos, argumentando que algunos de los detectados pudieran no ser realmente polimorfismos aplicables en mapeo, sino ser reflejo de posibles solapes entre otros productos de amplificación, errores en las correcciones de los datos devueltos por el detector de fluorocromos por solape de longitudes de onda y por casos de amplificaciones en umbrales demasiado próximas al umbral de ruido, con lo que el número real de polimorfismos sería menor. En otro trabajo para la

construcción de un mapa genético de lupino obtuvieron un rendimiento de 7,8 loci polimórficos por combinación Boersma y col. (2005), cifra más próxima a la aquí obtenida.

En la Tabla 53 se muestran los marcadores finalmente incluidos en el mapa genético obtenido, así como el número y porcentaje de ellos cuya segregación era distorsionada en la población en estudio. Del total de 232 marcadores finalmente incluidos en el mapa, 50 mostraron segregación distorsionada, siendo la mayoría de ellos AFLPs (34) y MFLPs (11).

TABLA 53: Número y tipo marcadores incluidos en el mapa genético.

<b>Tipo de Marcador</b>	<b>Marcadores mapeados</b>	<b>Marcadores distorsionados</b>
SSR	23	3 (13,0%)
ISSR	11	2 (18,2%)
AFLP	153	34 (22,2%)
MFLP	44	11 (25,0%)

Entre los tipos de marcadores mapeados, los MFLPs y AFLPs presentaron los mayores porcentajes de distorsión (25% y 22% respectivamente), mientras que los ISSRs y SSRs presentaron porcentajes menores de distorsión, 18 y 14% respectivamente. Los AFLPs, los más numerosos, también fueron los que mayor número absoluto de marcadores distorsionados presentaron. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Eujayl col. (1998), Hamwieh y col. (2005), y por Tanyolac y col. (2010). El porcentaje medio de marcadores distorsionados fue de casi el 22%, un valor que es mayor que el 12% del mapa obtenido por Phan y col. (2007).

La distorsión en la segregación de algunos marcadores, se puede deber, según citan Ford y col. (2007) y, Barzen y col. (1995), a muchos factores, como pequeñas reorganizaciones estructurales, aborto de gametos o selección de genotipos durante la formación de la población de mapeo. En nuestro caso, no se descarta una posible influencia de este último hecho debido a que algunas líneas presentaban problemas para finalizar su ciclo reproductivo.

## *Resultados y Discusión*

Según Semagn y col. (2006), el porcentaje, el grado, el origen y los efectos genéticos de la distorsión de la segregación varían significativamente entre especies, tipos de población de mapeo y tipos de marcadores, presentando usualmente las poblaciones de tipo RIL distorsiones en la segregación. Los efectos de estas distorsiones en el mapeo, según algunos autores no son importantes en cuanto al orden de los loci y la longitud del mapa, si bien otros autores han observado una reducción en el tamaño del mapa.

A pesar del alto grado de distorsión que han presentado los marcadores AFLPs, son muy útiles para la construcción de mapas genéticos porque pueden cubrir genomas enteros con suficientes número de marcadores (Durán y col. 2004). Es más, por su similitud, los marcadores MFLPs, a pesar de no ser tan extendida su utilización, también constituyen una excelente herramienta para generar marcadores polimórficos en poblaciones de mejora.

En la Figura 22 se representa el mapa genético finalmente obtenido, y en la Tabla 54 se aporta información relativa al mismo. Del total de 434 polimorfismos inicialmente detectados, finalmente se han integrado en el mapa un total de 232, agrupados en 13 grupos de ligamiento. El tamaño final del mapa ha sido de 577,5 cM. Por tipos de marcadores, se han incluido 153 loci marcadores tipo AFLP, 44 MFLPs, 11 ISSRs, 23 SSRs y un marcador morfológico, el color del cotiledón de la semilla (*Yc*). La distancia media entre loci es de 2,5 cM, variando entre 1,5 cM/loci del grupo de ligamiento 1 (LG1) y 7,08 cM/loci del LG13 (Figura 22).

Hay que reseñar que el marcador *ssr154* está descrito como codominante por Hamwieh y col. (2005), sin embargo, De la Puente (2012) observó un comportamiento de presencia/ausencia para este marcador, observado también en este trabajo, siendo el único SSR de presencia ausencia incluido en el mapa (Figura 22).

El resto de loci que no han sido incluidos en el mapa, principalmente AFLPs (146 loci) y MFLPs (48 loci), fueron excluidos durante la realización del mapa debido a la falta de ligamiento con otros loci. Al respecto, estos datos no difieren demasiado de



los obtenidos por Tanyolac y col. (2010), que mapearon 64 polimorfismos de tipo AFLP de los 180 que partieron para realizar el mapa, es decir un 35%; mientras que en nuestro caso este porcentaje ha sido ligeramente superior, el 51%.

El número de grupos de ligamiento obtenido es mayor que el número de cromosomas del complemento haploide de la especie, siete ( $2n = 14$ ). La cifra es similar a la de otros mapas genéticos publicados, variando entre ocho y 14 grupos de ligamiento en función del autor, los marcadores usados y la población segregante (Tabla 54), pero diferente del número de cromosomas que posee la lenteja, siendo evidente la necesidad de integrar mayor información en los mapas genéticos actuales de lenteja con el fin de conseguir un mapa consenso que permita emplearlo como una poderosa herramienta en la mejora genética de la lenteja.

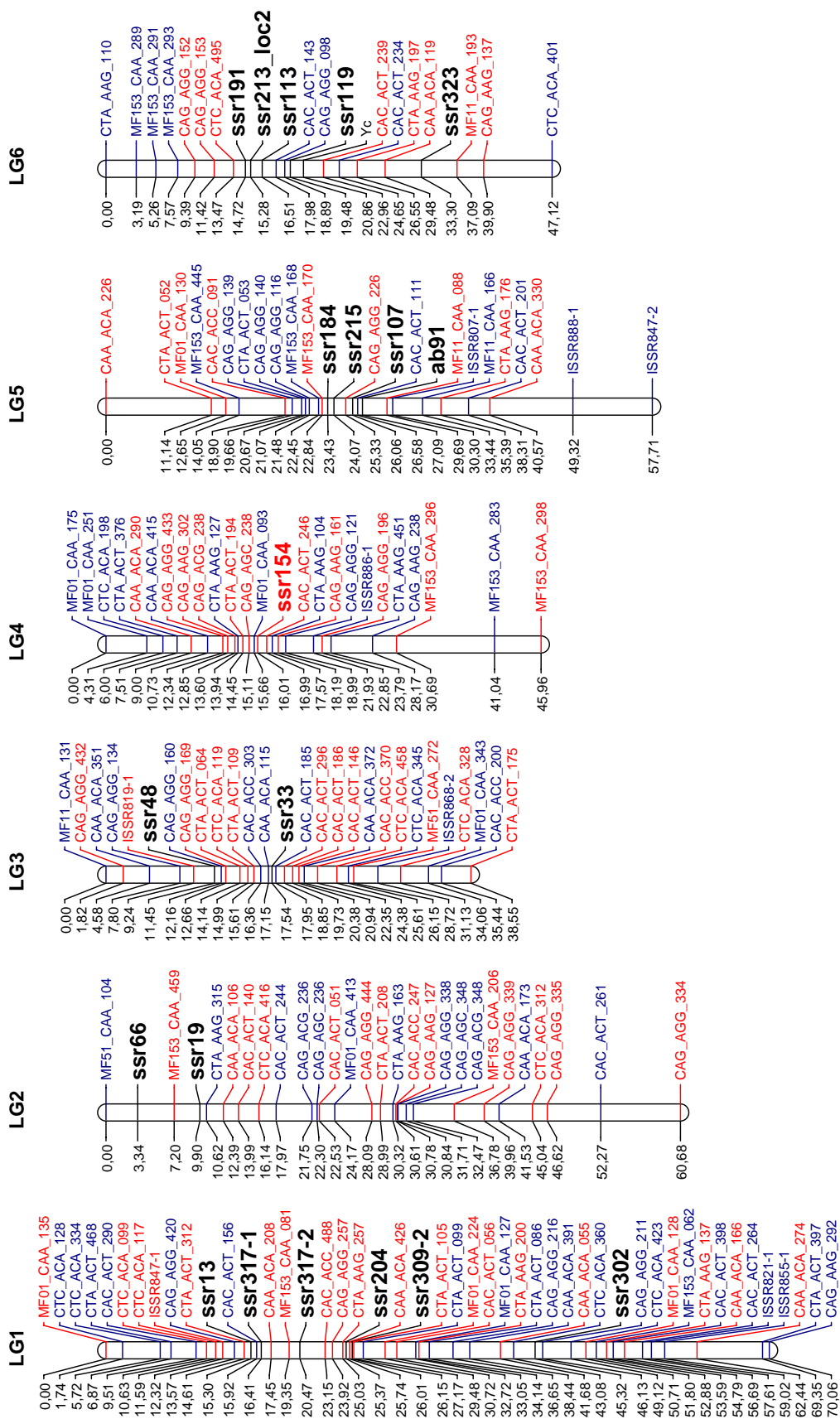
TABLA 54: Características de los grupos de ligamiento que forman el mapa genético.

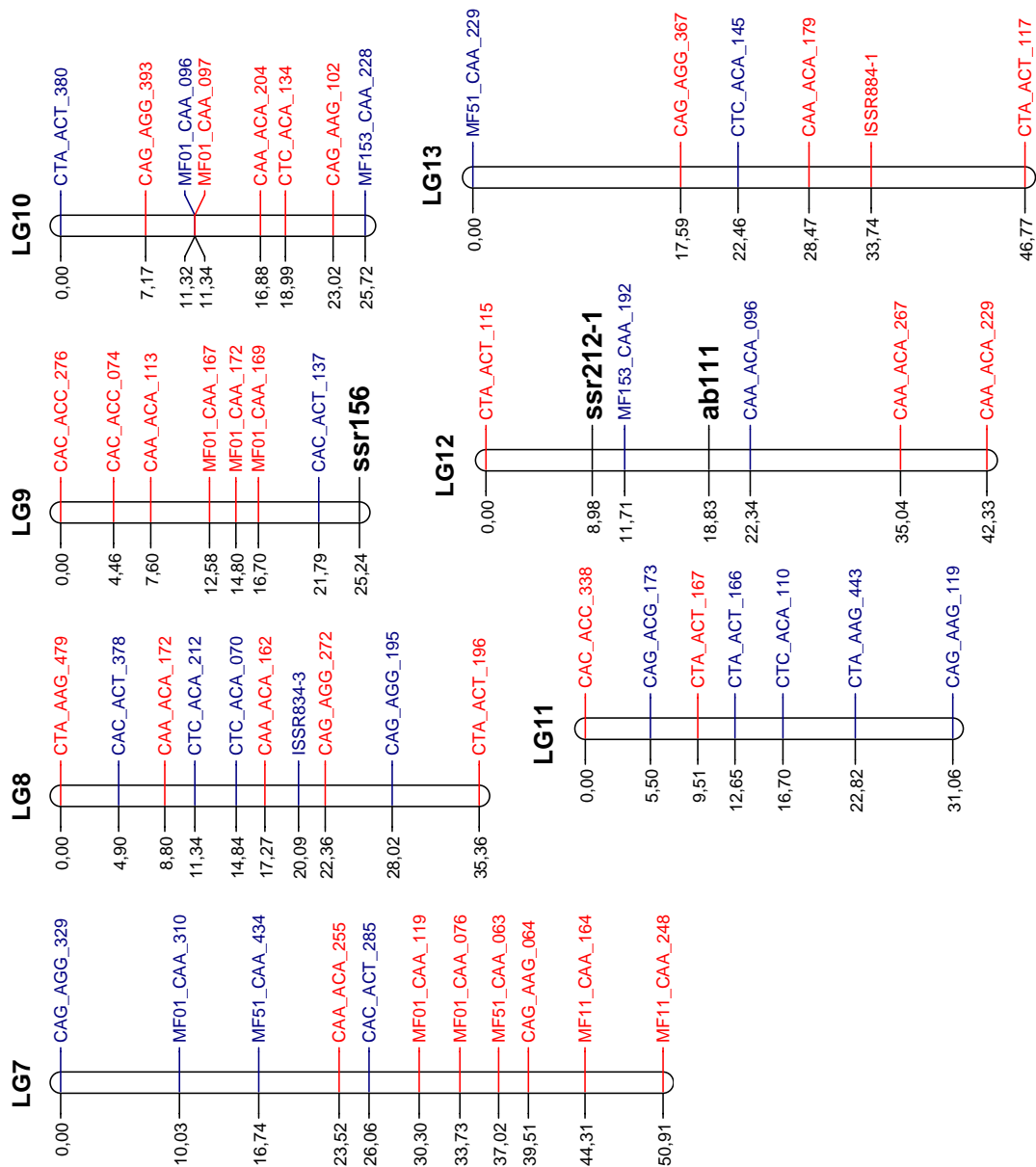
Grupo de ligamiento	Longitud (cM)	Nº de loci (%)	Distancia entre loci	
			Media	Máxima
<b>1</b>	70,1	47 (20,26)	1,50	6,91
<b>2</b>	60,7	28 (12,10)	2,17	8,41
<b>3</b>	38,5	28 (12,10)	1,38	3,22
<b>4</b>	46,0	25 (10,78)	1,84	10,35
<b>5</b>	57,7	25 (10,78)	2,31	11,14
<b>6</b>	47,1	22 (9,48)	2,14	7,22
<b>7</b>	50,9	11 (4,74)	4,63	10,03
<b>8</b>	35,4	10 (4,31)	3,54	7,33
<b>9</b>	25,2	8 (3,45)	3,15	5,09
<b>10</b>	25,7	8 (3,45)	3,21	7,17
<b>11</b>	31,1	7 (3,02)	4,44	8,24
<b>12</b>	43,3	7 (3,02)	6,19	12,69
<b>13</b>	46,8	6 (2,59)	7,80	17,59
<b>TOTAL</b>	<b>578,5</b>	<b>232 (100,00)</b>	Promedio: 2,49	

FIGURA 22: Mapa genético de lenteja (*Lens culinaris* subsp. *culinaris*) generado a partir de la población RIL en F<sub>6</sub> del cruzamiento Precoz x WA8649041.

Rojo en negrita: microsatélites de herencia codominantes.  
 Negro en negrita: microsatélites de presencia / ausencia.  
 Negro: banda presente en el parental WA8649041.  
 Azul marino: banda presente en el parental Precoz.

# Resultados y Discusión





Los grupos de ligamiento obtenidos han presentado variación en cuanto a su tamaño. El mayor es el LG1 con 70,1 cM de longitud, siendo también el que mayor número de marcadores incluye (47 loci, más del 20% del total), mientras que el LG9 ha sido el menor de ellos, con 25,2 cM, y el LG13 es el que menos número de marcadores ha incluido, con un total de 6 loci. Esta variabilidad en el tamaño en los grupos de ligamiento es menor de la obtenida por Tanyolac y col. (2010), que obtuvieron un grupo de ligamiento de 436,5 cM (aproximadamente un tercio del tamaño total del su mapa), frente a grupos de ligamiento menores de 20 cM, menos del 5% de la longitud de LG1.

## Resultados y Discusión

Las distancia media entre loci obtenida ha sido de 3,41 cM, siendo el LG3 el que tiene los loci más cercanos entre sí, con 1,38 cM de separación media, mientras que es el LG13 es el que tiene los loci más dispersos, con 7,8 cM. Estas cifras no se pueden comparar de forma directa con las obtenidas por Tanyolac y col. (2010) debido a la gran diferencia en cuanto a tamaños de mapas, 1.396 cM con 11 grupos de ligamiento en contraste con los 577 cM y 13 grupos de ligamiento obtenidos en este trabajo. Una explicación es que el método empleado para construir el mapa también difiere, en esta tesis se ha empleado el método mapeo por regresión mientras que ellos han empleado el método “Maximum Likelihood” y la frecuencia de recombinación para el agrupamiento.

Para poder comparar ambos mapas, se ha realizado el mapa con el mismo método empleado por Tanyolac y col. (2010), resultando un mapa de 2.284,79 cM repartidos en 17 grupos de ligamiento, donde el LG1 también presenta un tamaño muy grande en comparación al resto de grupos de ligamiento y la distribución de los distintos tipos de marcadores fue más homogénea a diferencia que en el mapa de Tanyolac y col. (2010).

TABLA 55 Características generales de diferentes mapas genéticos de lenteja publicados.

<b>Autores</b>	<b>LG</b>	<b>Tamaño cM</b>	<b>Número de marcadores</b>	<b>cM/locus</b>	<b>Tipo de población</b>	<b>Tamaño población</b>	<b>Cruzamiento</b>
Eujayl y col. (1998)	7	1073,0	177	6,0	RIL F <sub>6:8</sub>	86	interespecifico
Rubeena y col. (2003)	9	784,1	114	6,9	F <sub>2</sub>	150	interespecifico
Durán y col. (2004)	10	2172,4	161	15,9	F <sub>2</sub>	113	interespecifico
Kahraman y col. (2004a)	9	1192,0	130	9,1	RIL F <sub>6:8</sub>	106	intraespecifico
Hamwiah y col. (2005)	14	751,0	283	2,6	RIL	86	intraespecifico
Phan y col. (2007)	8	928,4	97	13,5	RIL F <sub>5</sub>	94	intraespecifico
Tullu y col. (2008)	12	1868,0	207	8,9	RIL F <sub>5:8</sub>	94	intraespecifico
Tanyolac y col. (2010)	11	1396,0	166	8,4	RIL F <sub>7</sub>	94	intraespecifico
Saha y col. (2010b)	14	1565,2	139	11,6	RIL F <sub>8</sub>	206	intraespecifico
De la Puente (2013)	8	2243,4	158	14,2	F <sub>2</sub>	113	interespecifico
Barrios	13	578,5	232	2,5	RIL F <sub>6:7</sub>	87	intraespecifico

Otros mapas genéticos de lenteja publicados (Tabla 55) también presentan tamaños muy distintos que van desde los 1.868 cM (Tullu y col. 2008) hasta los 750 cM (Hamwiah y col. 2005). Esto se puede deber principalmente a los diferentes tipos y

tamaños de poblaciones de mapeo, marcadores empleados y procedimientos estadísticos empleados para construir los mapas (Ferreira y col. 2006).

La distribución de los marcadores dentro de los grupos de ligamiento grandes no fue en general homogénea, ya que se observa un aumento de la densidad de marcadores en zonas centrales, mientras las zonas extremas densidad de marcadores era menor, como es común en los mapas genéticos actuales de lenteja (Ford y col. 2007). En cambio, en los grupos de ligamiento pequeños la distribución de marcadores fue más homogénea.

Comparando de nuevo el mapa obtenido con el de Tanyolac y col. (2010), se aprecia a primera vista la distinta distribución que tienen los marcadores AFLPs, que son los más abundantes en ambos mapas. Mientras que en nuestro mapa (Figura 22) los marcadores AFLPs están distribuidos de manera homogénea a lo largo de todos los grupos de ligamiento, en el mapa obtenido por Tanyolac y col. (2010) pasa lo contrario, apareciendo agrupados en el LG1, LG3 y LG9, y ausentes en el resto de grupos de ligamiento.

En relación con la distribución de los marcadores AFLPs en el mapa, se observa una tendencia al agrupamiento en forma de pequeños grupos, especialmente en los grupos de ligamiento más extensos. Esta tendencia a la formación de pequeños subgrupos también ha sido observada en otros mapas genéticos de lenteja (Durán y col. 2004, Muelhbauer y col. 2006, Phan y col. 2007) y de otras especies como guisante (Laucou y col. 1998), garbanzo (Winter y col. 2000) o cebada (Becker y Heum 1995). La formación de grupos de marcadores podría ser indicativo de regiones centroméricas y teloméricas, que tienen tasas de recombinación hasta diez veces menores que otras áreas del genoma (Tanksley y col. 1992).

Los marcadores AFLPs distorsionados se localizaron en el LG1 de Tanyolac y col. (2010), mientras que en este trabajo estos marcadores distorsionados han formado pequeños agrupamientos en los grupos de ligamiento 4 y 5 fundamentalmente.

## Resultados y Discusión

Lo ideal hubiera sido formar el esqueleto básico por marcadores SSRs, pero hoy en día se carece del suficiente número de marcadores SSRs publicados para realizarlo. Un primer paso hacia la construcción del mapa consenso son los microsatélites publicados por Durán y col. (2004), y Hamwieh y col. (2005), que han permitido establecer equivalencias entre los distintos mapas publicados (Tabla 56).

Debido a la falta de marcadores robustos tipo SSR en el mapa de Tanyolac y col. (2010), no se han podido complementar ambos mapas, tan sólo comparten el loci correspondiente al color del cotiledón (*Yc*) situado en el LG11, que en este trabajo se ha localizado en el LG6 (Figura 22).

TABLA 56: Localización de microsatélites mapeados en diferentes mapas de lenteja.

SSR	Barrios	Hamwieh 2005	Phan 2007	Tullu 2008	Saha 2010
ssr13	LG1	LG1	-	LG1	-
ssr317-1	LG1	LG1	LG4	-	-
ssr317-2	LG1	LG1	LG4	-	-
ssr204	LG1	LG1	LG4	-	LG1, LG8
ssr309-2	LG1	LG1	-	-	-
ssr302	LG1	LG1	LG4	LG1	-
ssr66	LG2	-	-	-	-
ssr19	LG2	LG6	-	-	-
ssr48	LG3	LG3	LG1	LG7	LG2
ssr33	LG3	LG3	LG1	-	-
ssr154	LG4	LG4	-	-	-
sr184	LG5	-	-	-	-
ssr215	LG5	LG2	LG2	-	-
ssr107	LG5	LG2	LG2	-	-
ssr191	LG6	-	-	-	-
ssr213_loc2	LG6	LG8	-	-	-
ssr113	LG6	LG8	-	-	LG4
ssr119	LG6	LG8	LG3	-	-
ssr323	LG6	LG5	LG3	-	LG1
ssr156	LG9	-	-	-	-
ssr212-1	LG12	LG6	LG6	-	-

Los marcadores SSRs desarrollados por el ICARDA (Hamwieh y col. 2005, 2009) han sido los marcadores que han permitido establecer, hasta la fecha, mejores equivalencias entre mapas publicados (Tabla 56).

### 4.3.- DETECCIÓN DE QTLs

#### 4.3.1.- QTLs RELACIONADOS CON EL RENDIMIENTO

Se han considerado un total de 13 covariables directamente relacionadas con el rendimiento: el dato medio genotípico para cada uno de los ocho ambientes particulares (ZP06, ZI06, ZP07, ZI07, ZI08, ZP08, PI08, PP08), y el dato medio para tres conjuntos de ambientes (considerando todos los ambientes en general, o los de siembra invernal y los de siembra primaveral en particular), así como las proyecciones en los dos ejes de interacción del modelo AMMI (IPCA1, IPCA2). La distribución de todas ellas se ha ceñido a la normalidad según la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la modificación de Lilliefors (Steel y Torrie 1981), en adelante K-S.

En la Tabla 57 aparecen los QTLs encontrados para el rendimiento, y se representan en las Figuras 23, 24 y 25. Se han encontrado ocho QTLs, seis de los cuales están localizados en el LG12, ligados a los marcadores SSR212-1 y MF153\_CAA\_192, y los otros dos restantes están localizados en los LG6 y LG8, asociados, estos dos últimos, a los ambientes ZP07 y ZP06, respectivamente.

TABLA 57: QTLs relacionados con el rendimiento en grano.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador más próximo	Posición marcador	% Expl.	Efecto aditivo	Intervalo de Confianza	
REN_ZP06	2,9	8	16,84	3,19	CTC_ACA_070	14,84	8,6	3,95	14,84	17,27
REN_ZI06	2,9	12	8,98	11,77	ssr212-1	8,98	46,4	9,21	8,00	10,98
REN_ZP07	2,9	6	26,55	4,45	CTA_AAG_197	26,55	22,3	-5,81	25,65	28,55
REN_ZI07	3,0	12	10,98	9,02	MF153_CAA_192	11,71	39,4	17,24	9,98	14,71
REN_ZP08	2,8	12	8,98	4,45	ssr212-1	8,98	21,0	8,97	6,00	10,98
REN_PRI	3,0	12	8,978	10,09	ssr212-1	8,98	41,7	5,85	8,00	10,98
REN_TOTAL	3,0	12	8,98	3,67	ssr212-1	8,98	17,7	5,66	4,00	10,98
IPCA2	3,0	12	10,98	5,18	MF153_CAA_192	12,00	2,1	0,12	7,00	10,98

% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL.

REN\_ZI06: Zamadueñas invierno 2006, REN\_ZP06: Zamadueñas primavera 2006, REN\_ZI07: Zamadueñas invierno 2007, REN\_ZP07: Zamadueñas primavera 2007, REN\_ZI08: Zamadueñas invierno 2008, REN\_ZP08: Zamadueñas primavera 2008, REN\_PI08: Peñafior invierno 2008, REN\_PP08: Peñafior primavera 2008, REN\_INVI: ambiente de invierno, REN\_PRIM: ambientes de primavera, REN\_TOTAL: todos los ambientes. IPCA2: segundo eje de interacción del modelo AMMI.

## Resultados y Discusión

En la mayoría de estos QTLs el efecto aditivo positivo se ha debido al parental Precoz (valores positivos en la columna correspondiente al efecto aditivo en la Tabla 56), mientras que en tan sólo un QTL, el único detectado para el ambiente ZP07, el efecto aditivo se ha debido debe al parental WA8649041.

Para la localidad Peñaflor de Hornija no se detectó ningún QTL relacionado directamente con el rendimiento, así como en los ambientes de Zamadueñas Invierno en los años 2006 y 2008. Tampoco se detectaron QTLs para el carácter que considera la media de todos los ambientes de invierno (REN\_INVI, Tabla 57). Los dos QTLs detectados en grupos de ligamiento diferentes del LG12 sólo se han detectado para dos ambientes de primavera en la localidad Zamadueñas, no habiéndose repetido ninguno de ellos en otra campaña.

FIGURA 23: QTLs relacionados con el rendimiento en el LG6.

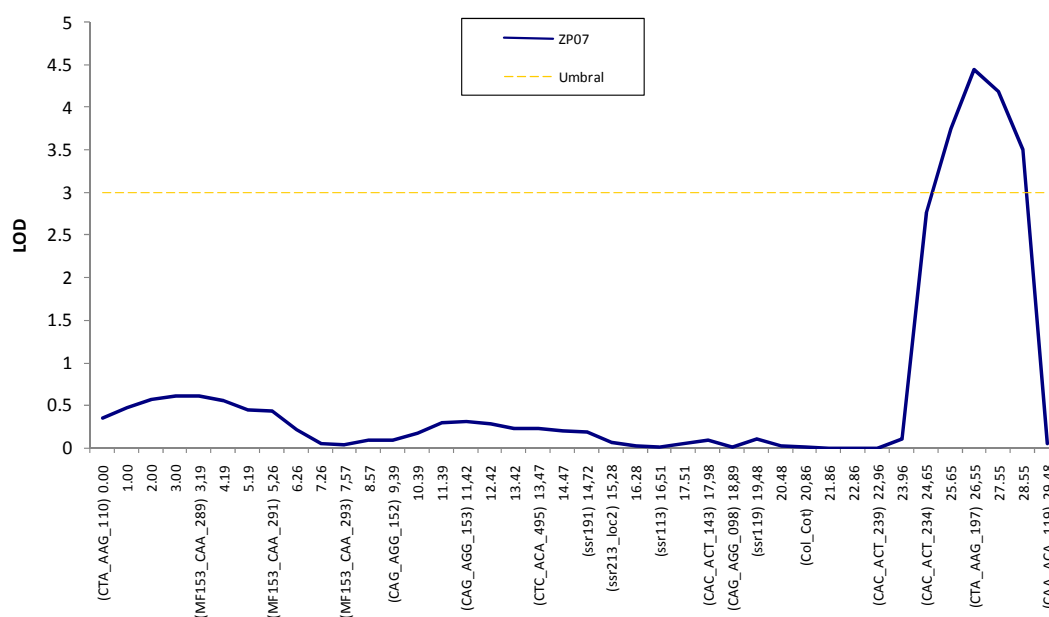




FIGURA 24: QTLs relacionados con el rendimiento en el LG8.

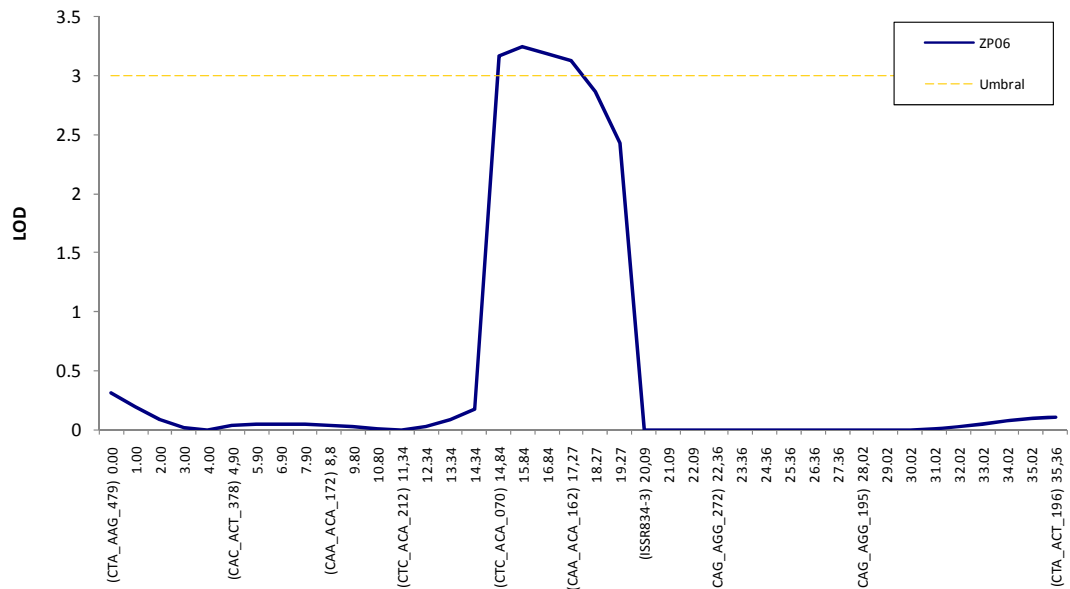
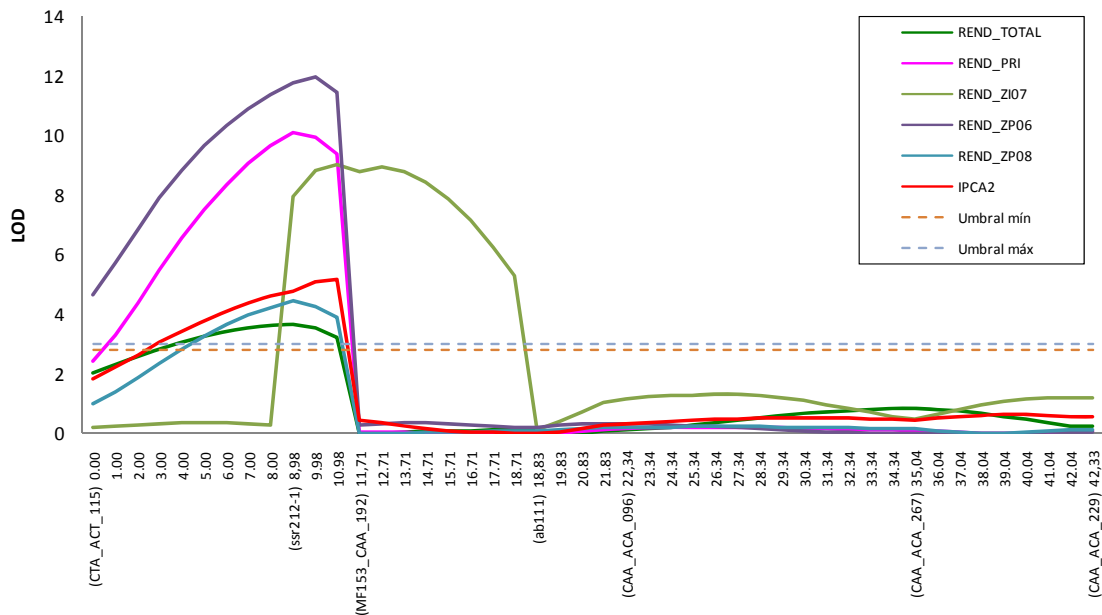


FIGURA 25: QTLs relacionados con el rendimiento en el LG12.



En el LG12 se detecta un QTL relacionado con el rendimiento en la mayoría de los ambientes de Zamadueñas. Dicho QTL parece estar asociado a esta localidad,

## *Resultados y Discusión*

independientemente del tipo de siembra que se haya realizado, invernal o primaveral, lo que sugiere que podría estar relacionado con algún factor ecológico de Zamadueñas, ya que no se detectó en ninguno de los ambientes de Peñaflores (Figura 25). Además dentro de los ambientes de Zamadueñas, está asociado principalmente las siembras de primavera, ya que sólo se ha detectado en un ambiente de siembra invernal, ZI07, lo que podría explicar que al considerar el conjunto de los ambientes de primavera (PRI), sí se haya detectado su presencia, y no se haya detectado en el conjunto de los ambientes de invierno (INV). Sin embargo, el QTL correspondiente a ZI07 es el único que parece ligeramente desplazado respecto al resto con lo que, si bien no se puede concluir que en este grupo de ligamiento haya varios QTLs vinculados con el rendimiento y que estos puedan tener relación en su expresión con la fecha de siembra, tampoco se puede concluir que haya un sólo QTL independiente de la fecha de siembra.

Del mismo modo, tampoco se puede afirmar que este QTL sea un QTL de rendimiento de tipo general. Su detección en la mayoría de los ambientes de primavera, y sobre un único ambiente de invierno, deja abierta la duda de si este QTL está relacionado con la fecha de siembra o es un QTL de rendimiento general.

El rendimiento es un carácter complejo que, desde un punto de vista fisiológico, es la culminación de una serie de procesos (desarrollo fenológico, intercepción de la radiación, producción y reparto de biomasa, etc.) que están influenciados por el ambiente (Charles-Edwards 1982), en el que muchos genes tienen efectos directos e indirectos (Slafer 2003), por ello, la relación entre los componentes del rendimiento pueden estar afectados por factores genéticos y factores ambientales, así como las interacciones que existan entre ambos (Hartl y Jones 2001).

En lenteja la base genética de los componentes del rendimiento aún no se conoce bien, aunque sí se ha estudiado su heredabilidad y las correlaciones que hay entre ellos (Biçer y Sakar 2010, Karadavut 2009).

En los puntos siguientes se van exponer los resultados obtenidos en la detección de QTLs relacionados con las covariables genotípicas evaluadas y su relación con el rendimiento.

4.3.2.- QTLs RELACIONADOS CON LAS SUPERVIVENCIAS EN CAMPO

Se ha considerado un total de nueve covariables genotípicas, ocho de ellas son porcentajes de supervivencia respecto de las semillas sembradas (PSUP2\_SEM) para los ocho ambientes particulares ensayados (ZP06, ZI06, ZP07, ZI07, ZP08, ZI08, PP08, PI08). La otra covariable considerada es el porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas (PSUP2\_NAS) para un ambiente particular (ZI08), el resto de los ambientes no se han incluido en la detección de QTLs debido a la poca heredabilidad que tuvo PSUP2\_NAS (capítulo 4.1.7.1.-). Todos ellos se han ceñido a la normal según la prueba de K-S salvo el carácter PSUP2\_NAS\_ZI08.

Considerando todos los ambientes, por el método MQM (Multiple-QTL Model), se han obtenido un total de ocho QTLs relacionados con la supervivencia en campo, localizados fundamentalmente en los LG3 y LG12 y, en menor número, en los LG6 y LG8 (Tabla 58, Figuras 26, 27, 28 y 29). Unos QTLs son exclusivos de un solo ambiente, como el situado en el LG8 exclusivo de ZI08, o el del LG6 exclusivo de ZI06. Otros parecen más genéricos, como el situado en el LG3 o en el LG12, apareciendo este último en seis de los ocho ambientes estudiados. Para cada ambiente ensayado se ha localizado un QTL, salvo para el ambiente ZP06, donde no se detectó ninguno.

TABLA 58: Localización de los QTLs relacionados con la supervivencia en campo.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador más próximo	Posición del marcador	% Expl.	Efecto aditivo	Intervalo de confianza
PSUP2_SEM_ZI06	2,9	6	22,97	3,04	CAC_ACT_239	22,96	15,00	-6,92	22,96 22,96
PSUP2_SEM_ZP07	3,1	12	6,00	6,07	ssr212-1	8,98	29,90	-5,50	1,00 10,98
PSUP2_SEM_ZI07	3,0	12	11,72	7,89	MF153_CAA_192	11,71	34,60	-7,15	9,98 14,71
PSUP2_SEM_ZP08	3,1	12	7,00	5,53	ssr212-1	8,98	27,80	7,22	4,00 10,98
PSUP2_SEM_ZI08	3,0	8	4,90	4,89	CAC_ACT_378	4,90	23,70	-10,08	2,00 5,90
PSUP2_SEM_PP08	2,9	12	9,98	6,03	ssr212-1	8,98	28,70	7,43	8,98 16,71
PSUP2_SEM_PI08	3,0	12	10,98	6,79	MF153_CAA_192	11,71	31,50	10,35	8,98 14,71
PSUP2_NAS_ZI08*	3,0	3	1,00	7,31	MF11_CAA_131	0,00	36,00	-12,71	0,00 1,00

% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL. \* carácter que no se ha ceñido a la normal. PSUP2: porcentaje de supervivencia, SEMB: respecto de las semillas sembradas, NASC: respecto de las plántulas nacidas. Z: Zamadueñas. P: Peñaflor. I: invierno. P: primavera. PRIM: ambientes de primavera. INVI: ambientes de invierno. TOTAL: todos los ambientes.

## Resultados y Discusión

Considerando el carácter PSUP2\_NAS\_ZI08, aplicando el método de Kruskal-Wallis (en adelante K-W), se han obtenido de 22 marcadores asociados a él, 19 en el LG3, distribuidos desde la posición 0 hasta la 22,36 cM, y 3 en el LG8: CAC\_ACT\_378 en la posición 5 cM, CTC\_ACA\_212 en la posición 11,34 cM y CAG\_AGG\_272, en la posición 22,36 cM. El marcador MF11\_CAA\_131 situado en el extremo del LG3, es el único marcador en el que ambos métodos, MQM y K-W, han coincidido.

En cuanto al efecto aditivo, para aquellos grupos de ligamiento diferentes del LG12 en los que se han detectado QTLs, éstos lo han sido en un sólo ambiente particular para cada uno de ellos, siempre de siembra invernal y con signo negativo, indicativo del efecto aditivo positivo aportado por el parental WA864941, el más tolerante a las heladas en función de la información aportada por las pruebas en cámara de ambiente controlado. Estas observaciones corresponderían con lo esperado para la hipótesis de que la supervivencia en campo esté influida por la incidencia de las heladas.

FIGURA 26: QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG3.

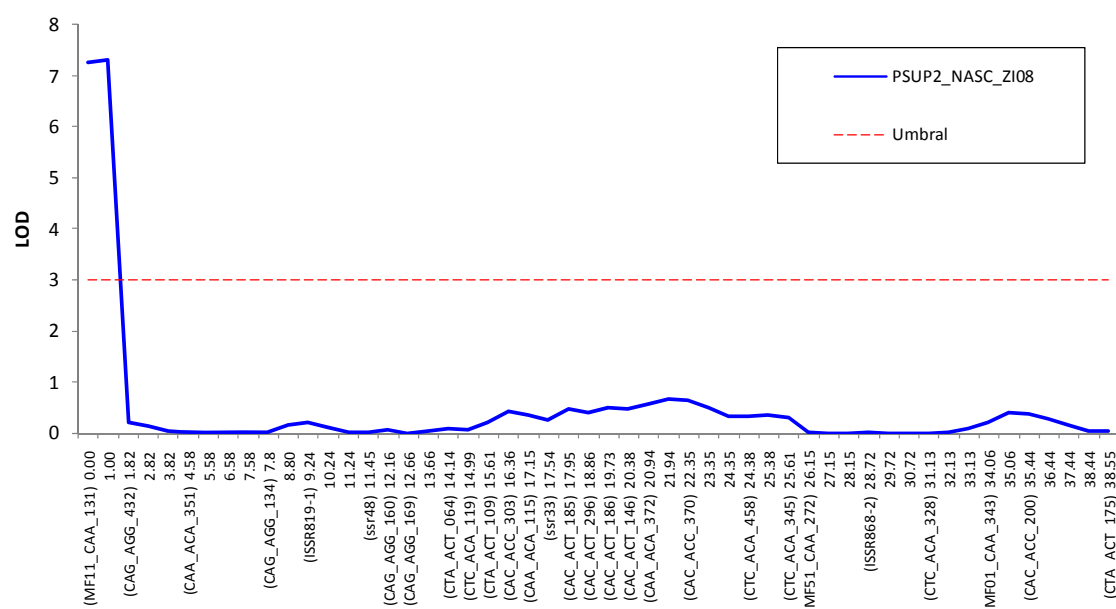


FIGURA 27: QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG6.

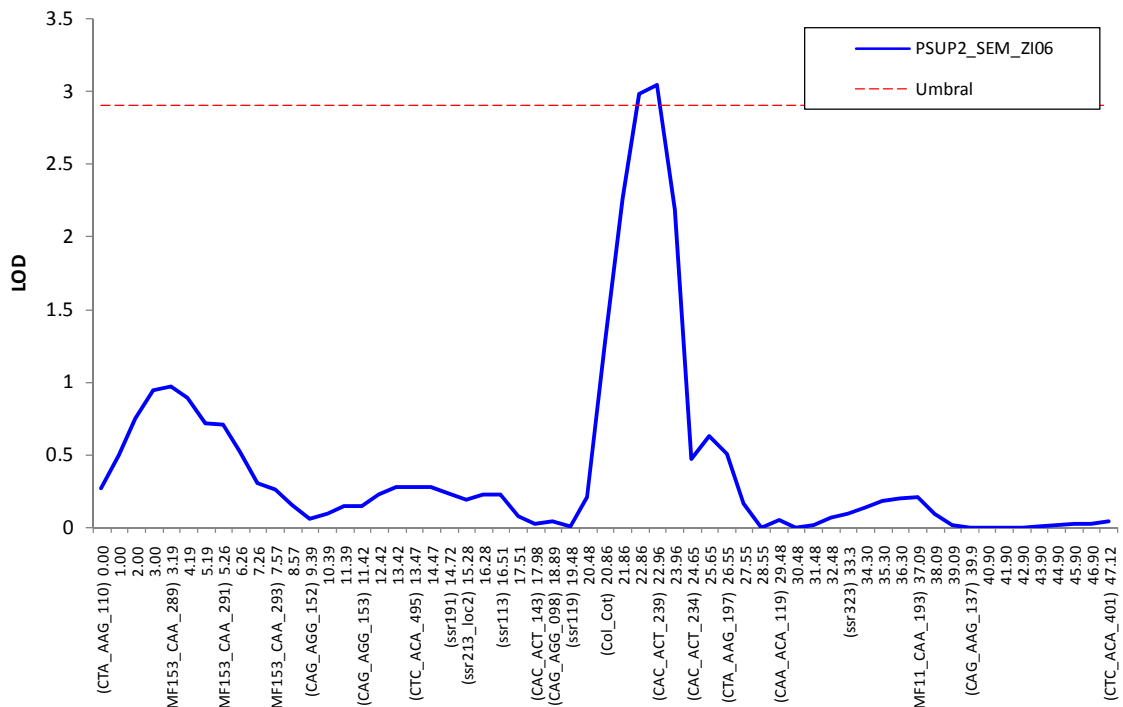
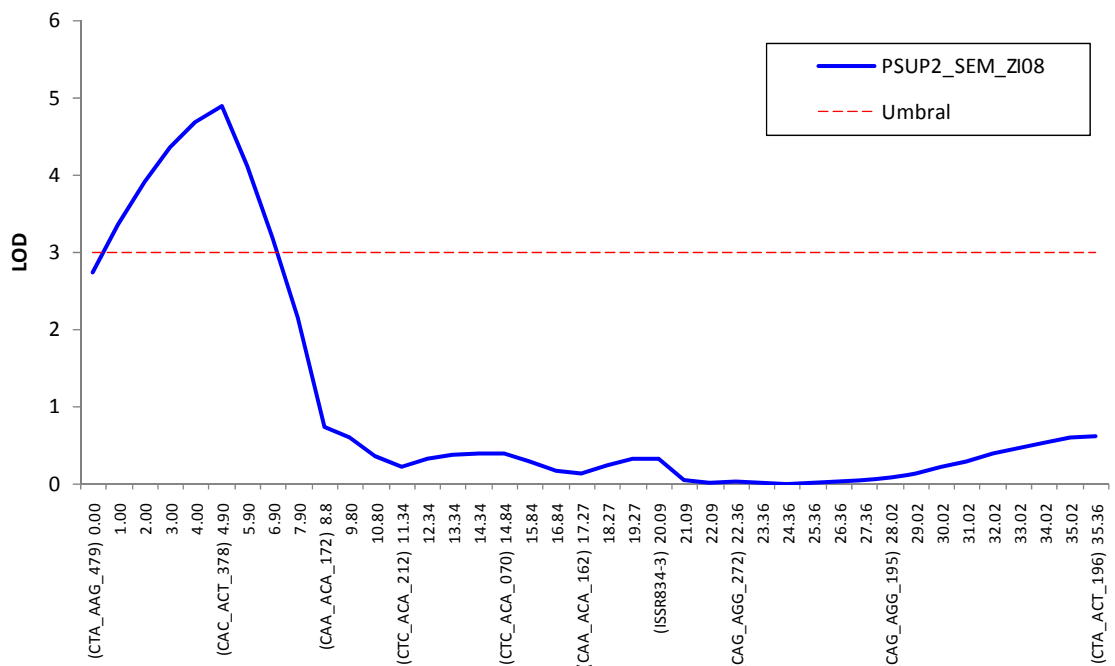
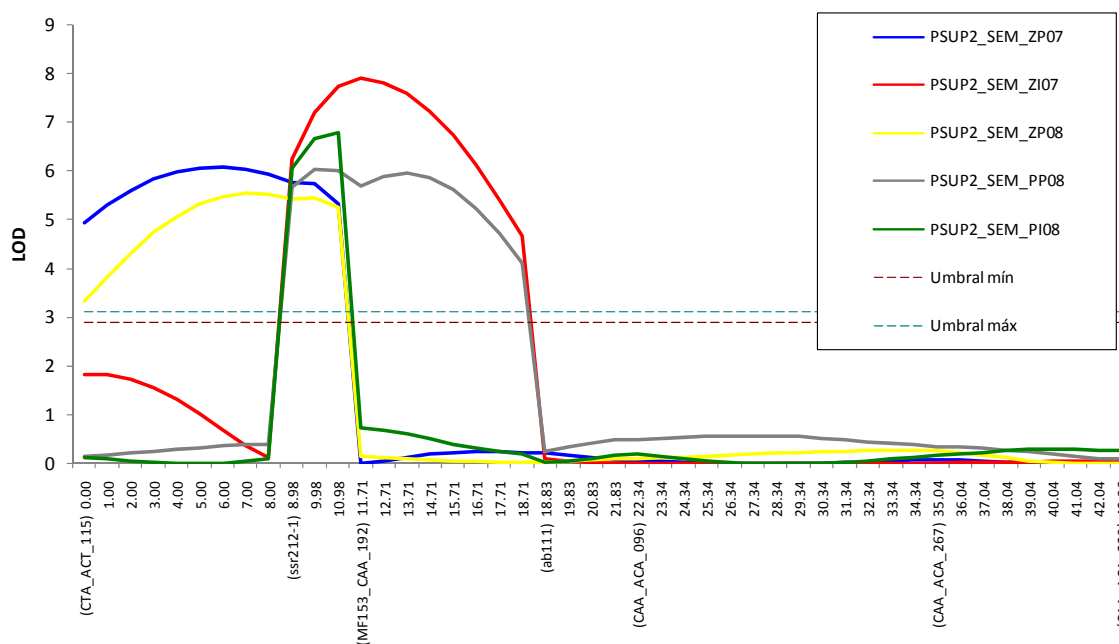


FIGURA 28: QTL relacionado con la supervivencia en campo en el LG8.



## Resultados y Discusión

FIGURA 29: QTLs relacionados con la supervivencia en campo en el LG12.



Sin embargo, en el caso del LG12, en el que se han detectado el resto de QTLs relacionados con la supervivencia en campo, en la expresión del efecto aditivo ha habido una influencia de la campaña considerada, y no de la fecha de siembra utilizada. Así, el efecto ha sido negativo para los dos ambientes en la localidad de Zamadueñas en la campaña 2007, en la que se ha detectado (signo positivo para la expresión motivada por el parental WA864941) con independencia de la fecha de siembra, mientras que ha sido positivo (contribución positiva del otro parental Precoz), en los dos ambientes de la localidad de Peñaflores en la campaña 2008 en que se ha detectado, de nuevo con independencia de la fecha de siembra.

En el LG12 se concentran el mayor número de QTLs detectados, cinco de los ocho totales, que además están ligados a dos marcadores contiguos, MF153\_CAA\_192 y SSR212-1. Todos son exclusivos de los ambientes correspondientes a los años 2007 y 2008, y dentro de éstos, los que aparecen más próximos al marcador MF153\_CAA\_192 pertenecen a ambientes de siembra invernal, mientras que los que aparecen más próximos al marcador SSR212-1 corresponden a ambientes primaverales.

Como puede observarse en el mapa genético, los marcadores SSR212-1 y MF153\_CAA\_192 están muy próximos entre sí, ligados a 2,7 cM de distancia. Esto sugiere en realidad que los cinco QTLs detectados en este grupo de ligamiento pueden ser realmente un único QTL, si bien en función de los efectos aditivos observados y de la proximidad al marcador más próximo en cada caso, no se puede descartar la presencia de un grupo de genes involucrados en la expresión de la supervivencia en el campo.

Así, aunque se hayan considerado ocho QTLs, muchos de ellos responden a la misma localización o a localizaciones muy próximas en el mapa genético, reduciéndose a cuatro las regiones genómicas implicadas en la supervivencia en campo, situadas en el LG3, LG6, LG8 y LG12. De éstos, sólo el QTL para PSUP2\_NAS\_ZI08, situado en el LG3 y ligado el marcador MF11\_CAA\_131, identifica el porcentaje de supervivencia respecto de las plántulas nacidas, es decir, se refiere al periodo desde la germinación a la emergencia del cultivo (Tabla 58). Ya se ha comentado que la prueba K-W sí que ha detectado, como marcadores significativos, los mismos que se han detectado por el método MQM. Para el carácter PSUP2\_NASC\_ZI08, la prueba K-W localiza tres marcadores localizados aproximadamente en las posiciones 5, 11 y 22 cM del LG8. En la posición 5 cM del LG8 se ha localizado también un QTL relacionado con la supervivencia respecto de las semillas sembradas justo en el mismo ambiente, Zamadueñas Invierno 2008.

Los QTLs detectados en LG3, LG6 y LG8 no han sido lo suficientemente consistentes para expresarse en más de un ambiente, lo que puede ser indicativo de que las condiciones ambientales que se dieron durante la realización de los ensayos de campo posiblemente no fueran lo suficientemente severas como para permitir una mayor expresión de esos QTLs en cuanto a diferencias en el porcentaje de supervivencia. Este hecho no es más que otro ejemplo de lo complejo que es el evaluar para tolerancia a la dureza invernal en campo debido a lo impredecibles y variables que son las condiciones invernales, lo que hace que la tolerancia a la dureza invernal se exprese esporádicamente (Lewitt 1980, Sulc y col. 1991, Kahraman y col. 2004b, Muehlbauer y col. 2004, Wooten y col. 2009).

## *Resultados y Discusión*

Posiblemente se pueda deber a la poca severidad del invierno en esos años. Otra hipótesis sería que en las supervivencias haya influido algún otro factor independiente de la helada o el frío, si bien no se puede saber qué factor, ya que no se apreciaron, ni se evaluaron en consecuencia, plagas o enfermedades que pudiera haber intervenido en el resultado. Lo que si se puede afirmar es que a lo largo de la realización de los ensayos, Precoz ha tenido una fenología mucho mejor adaptada a las condiciones ambientales de la meseta Castellano y Leonesa que WA8649041, a pesar de ser el primero un material susceptible al frío, lo que puede indicar un mejor patrón de adaptación general que pueda tener cierto reflejo en la supervivencia en campo, al menos en aquellos casos en los que el efecto aditivo positivo se ha asociado a este parental.

Kahraman y col. (2004b) mapearon QTLs para tolerancia a la dureza invernal en lenteja empleando también una población donde uno de los parentales era Precoz, ensayando en diferentes localidades durante tres años, detectando un QTL en su LG4 que mostró consistencia en la expresión a lo largo de todos los ambientes, y otros QTLs que se expresaron en un único ambiente particular. En este trabajo también se han detectado QTLs que se expresaron en un solo ambiente y un QTL, localizado en el LG12, que si bien, no ha mostrado la consistencia que el QTL del LG4 de Kahraman y col. (2004a) en cuanto a la expresión en signo del efecto aditivo. También se ha expresado en todos los ambientes salvo los de la campaña 2006. Este QTL del LG12 podría corresponder a los cinco QTLs ligados a los marcadores contiguos SSR212-1 y MF153\_CAA\_192.

Algunos de los QTLs detectados para supervivencia en campo han mostrado una cierta coincidencia en cuanto a localización en relación a los QTLs detectados para rendimiento. Así, todos los QTLs para supervivencia en campo en el LG12 colocalizan con los QTLs de rendimiento. Sin embargo, al estudiar los distintos ambientes y los efectos aditivos que se obtuvieron para cada uno de ellos, no parece existir una relación clara en cuanto a la posible influencia de la expresión de la supervivencia en campo respecto a los rendimientos. Así, de todos los QTLs localizados en LG12, tan sólo hay tres QTLs de rendimiento que pudieran corresponder en localización con los tres respectivos QTLs de supervivencia en campo en cuanto a coincidencia de ambientes particulares: ZP07, ZI07 y ZP08. De ellos, en dos ambientes, ZP07 y ZP08, coinciden



los signos del efecto aditivo y sus valores son semejantes (8,97 y 7,22 en rendimiento y supervivencia en campo para ZP07 respectivamente, -5,81 y -5,50 en rendimiento y supervivencia en campo para ZP08 respectivamente, Tablas 57 y 58), Si bien esa coincidencia no se cumple en el caso de ZI07.

Por otra parte, para ambos tipos de caracteres se ha detectado algún QTL en los LG6 y LG8, si bien en esos casos no parecen guardar relación en cuanto al ambiente en que se detectan ni aparecen colocalizados o en posiciones cercanas, con lo que en estos casos no parece existir ninguna relación.

Por último, en el LG3, donde se ha localizado el QTL relacionado con el porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas en el ambiente ZI08, no se ha encontrado ningún QTL relacionado con el rendimiento.

En general, todos los QTLs de rendimiento presentaron una componente aditiva positiva, salvo en el ambiente ZP07, lo que significa que es el parental Precoz el que aporta la expresión positiva de esos QTLs, lo que guarda cierta concordancia con el estudio de rendimiento en campo, donde dicho parental quedaba mucho mejor clasificado al respecto, en la zona muy consistentemente superior (gran estabilidad y alto rendimiento). En cambio, para las supervivencias en campo, son mayoría los QTLs que tienen un efecto aditivo negativo, es decir, aportados por el parental WA8649041, parental más tolerante a frío.

Es decir, si bien se han detectado QTLs involucrados en la expresión de la supervivencia en campo, no se puede asegurar con plena fiabilidad que guarden una relación con la capacidad de sobrevivir a las heladas u otros rigores invernales, ni tampoco que esa expresión de la supervivencia tenga reflejo en la expresión de los rendimientos.

#### **4.3.3.- QTLs RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA A HELADAS EN CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO**

Para los caracteres relacionados con la tolerancia a las heladas en cámara de ambiente controlado se han considerado un total de 12 caracteres, que incluyen los porcentajes de supervivencia, del tallo principal (PSUPT) y viable (PSUPV) de los tratamientos de helada más severos (-12 y -15°C), así como los daños generales por helada para los tratamientos de helada de -9, -12 y -15°C, y la tolerancia a las heladas (TOLHEL). No se han considerado otros tratamientos de helada ensayados debido a que no se detectaron diferencias significativas entre los genotipos.

De estos 12 caracteres, la tolerancia a las heladas (TOLHEL) y el porcentaje de supervivencia del tallo principal a -15°C (T15PSUPT) no se ceñieron a la normal según la prueba de K-S. Mediante el método de K-W para el carácter T15PSUPT se detectaron un total de 20 marcadores en el LG1 distribuidos desde la posición 11 cM hasta la posición 46 cM, entre los que se incluyen marcadores AFLP, MFLP y SSR. Para la tolerancia a las heladas, por el método de K-W, se han encontrado 18 marcadores en el LG1, entre las posiciones 13,6 y 22,4 cM, y 7 marcadores en el LG3 entre las posiciones 4,6 y 28,7 cM.

Los QTLs detectados por el método MQM para los caracteres que no se han ceñido a la normal (TOLHEL y T15PSUPT), han coincidido con los marcadores detectados por el método K-W, salvo el QTL del LG3 para el carácter T15\_PSUPT, en la posición 10,24 cM (Tabla 59).

Mediante el método MQM, considerando todos los caracteres, se han detectado un total de 22 QTLs (Tabla 59, Figuras 30, 31, 32 y 33), 10 en el LG1, ocho en el LG3, dos en el LG4 y otros dos en el LG12. Ocho QTLs están relacionados con los daños generales en la planta a causa de los tratamientos de helada (DAGE), cuatro relacionados con la supervivencia viable (SUPV), ocho relacionados con la supervivencia del tallo principal (SUPT), y dos relacionados con la tolerancia a heladas (TOLHEL).

TABLA 59: QTLs detectados relacionados con la tolerancia a las heladas en ambiente controlado.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador Más próximo.	Posición del marcador	% Expl.	Efecto aditivo	Intervalo de confianza
T09_DAGE	3,0	3	1,00	7,48	CAG_AGG_432	1,82	35,10	-7,55	0,00 1,82
T12_DAGE	3,0	1	26,01	6,12	ssr309-2	26,01	18,00	-4,93	26,01 26,01
T12_DAGE	3,0	3	3,82	8,10	CAA_ACA_351	4,58	26,90	-7,01	2,82 4,58
T12_DAGE	3,0	12	15,72	3,09	ab111	18,83	8,70	-3,68	14,71 16,71
T15_DAGE	3,0	1	13,57	6,15	CAG_AGG_420	13,57	16,90	-3,87	13,32 14,57
T15_DAGE	3,0	1	45,32	3,32	ssr302	45,32	7,70	-2,55	44,08 45,32
T15_DAGE	3,0	3	2,82	7,35	CAG_AGG_432	1,82	21,30	-4,67	1,82 3,82
T15_DAGE	3,0	12	12,71	3,50	MF153_CAA_192	11,71	9,50	-2,87	10,98 15,71
T12_SUPT	2,9	1	13,57	3,20	CAG_AGG_420	13,57	5,70	-7,90	13,32 14,57
T12_SUPT	2,9	1	25,03	11,44	CTA_AAG_257	25,03	30,80	-14,31	24,92 25,03
T12_SUPT	2,9	3	21,94	4,64	CAC_ACC_370	22,35	10,70	-9,02	20,94 23,35
T12_SUPT	2,9	4	9,00	6,38	CAA_ACA_290	9,00	14,50	20,24	9,00 9,00
T12_SUPT	2,9	4	13,94	3,41	CTA_AAG_127	13,94	7,10	-14,08	13,94 13,94
T15_SUPT*	3,0	1	15,92	5,89	CAC_ACT_156	15,92	18,10	-7,37	15,92 16,41
T15_SUPT*	3,0	1	46,13	3,03	CAG_AGG_211	46,13	8,90	-5,45	46,13 46,13
T15_SUPT*	3,0	3	10,24	5,17	ISSR819-1	9,24	17,00	-7,15	7,80 11,24
T12_SUPV	3,0	1	25,03	5,59	CTA_AAG_257	25,03	21,30	-10,30	23,92 25,03
T12_SUPV	3,0	3	3,82	4,84	CAA_ACA_351	4,58	19,20	-11,11	2,82 5,58
T15_SUPV	3,0	1	18,44	6,46	MF153_CAA_081	19,35	25,50	-11,23	17,45 19,35
T15_SUPV	3,0	3	6,58	4,66	CAG_AGG_134	7,80	19,30	-10,84	4,58 8,80
TOLHEL*	2,9	1	25,03	4,84	CTA_AAG_257	25,03	19,40	-0,54	23,92 25,37
TOLHEL*	2,9	3	3,82	3,81	CAA_ACA_351	4,58	16,70	-0,56	2,82 6,58

% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL.\* caracteres que no se ciñen a la normal. T09, T12, T15: tratamientos de temperatura de helada, -9, -12 y -15 °C. DAGE: daños generales. SUPV: supervivencia viable, referida a plantas vivas que tienen capacidad de crecer después de las heladas. SUPT: supervivencia del tallo principal. TOL\_HEL: tolerancia a heladas.

El parental responsable de aportar los efectos aditivos ha sido en casi todos los casos WA8649041, ya que son todos de signo negativo, salvo para el QTL relacionado con T12\_PSUPT situado en la posición 9 cM en el LG4, que curiosamente tiene el mayor valor absoluto de todos, 20,24, y aportado el parental más susceptible a las heladas, Precoz (Tabla 59) Esta situación contrasta con los QTL detectados para supervivencia en campo, que como ya se ha comentado, también se esperaba *a priori* que fuera el parental tolerante, WA8649041, el responsable de esos QTL, pero en cambio, no fue así. Esto demuestra las diferencias que hay entre el carácter supervivencia en campo y el carácter tolerancia a las heladas, siendo el primero un

## *Resultados y Discusión*

carácter más complejo que el segundo, pues en él pueden influir otros factores independientes de la helada.

Los dos QTLs del LG4 están relacionados con el porcentaje de supervivencia del tallo principal a -12°C (T12\_PSUPT), siendo uno de ellos el ya comentado con el efecto aditivo aportado por el parental susceptible. Los dos del LG12 lo están con los daños generales por helada (T12\_DAGE, T15\_DAGE). En los LG1 y LG3, se han detectado QTLs tanto para los dos tipos de supervivencia evaluados como para los daños generales, para todas las temperaturas consideradas, así como para la tolerancia general a heladas.

En el LG1 es donde más QTLs se han encontrado, diez en total, cuya distribución puede apreciarse en la Figura 30. Si bien los QTLs obtenidos parecen dispersos, también es cierto que parecen tender a cierta agrupación, por lo que la discusión referente a si realmente se trata de QTLs independientes o si realmente algunos de ellos pudieran estar colocalizados tiene un componente de subjetividad. En general parecen ser dos las zonas principales de detección.

Para la interpretación de los resultados en el LG1 se han considerado tres zonas principales (Figura 30) de agrupación de los QTLs. Esta consideración se ha basado en la propia distribución visual que se aprecia, junto con el apoyo que proporciona que para tres de los caracteres (T15\_DAGE, T12\_SUPT y T15\_SUPT) se han detectado dos QTLs en este grupo de ligamiento, aparentemente independientes pues se han definido tras la inclusión en cada carácter de uno de ellos como cofactor. Asimismo, se ha considerado el tipo de carácter o la temperatura de evaluación de los mismos en la distribución de QTLs.

De esta forma, la primera zona, entre los 11 y los 21 cM aproximadamente, se localizaría tres QTLs asociados a los tres parámetros evaluados (daños y supervivencia viable y de tallo principal) a -15°C, junto con un QTL asociado a la supervivencia del tallo principal a -12°C (T12\_SUPT).

La segunda zona, entre los 23 y los 27 cM aproximadamente, *a priori* podría considerarse junto a la primera. El motivo de considerarla como diferentes ha sido la detección inicial de un nuevo QTL para T12\_SUPT, lo que puede indicar la presencia de un gen o grupo de genes en esta zona con efecto independiente de la primera. No se debe olvidar que en la definición de QTLs se han ido incluyendo como cofactores los marcadores más ligados con los QTLs que se iban obteniendo en cada paso, con el fin de facilitar la detección de nuevos QTLs cuya influencia en la expresión del carácter pudiera estar enmascarada por el efecto del inicialmente detectado. En este caso, el primer QTL detectado lo fue en la segunda zona establecida, y al incluirlo como cofactor se detectó un nuevo QTL en la zona 1 que, si bien estrechamente ligados por la poca distancia entre ellos, sí incluía suficiente información particular como para expresarse una vez se realizaba la corrección por los cofactores. En esta segunda zona se han detectado otros tres QTLs: los otros dos relacionados con caracteres evaluados a -12 °C y otro relacionado con la tolerancia a heladas evaluada de forma conjunta para la globalidad de la información proporcionada por la cámara de ambiente controlado.

En la tercera zona, entre 42 y 50 cM aproximadamente, se han detectado otros dos QTLs, ambos relacionados con la temperatura de -15°C, en concreto con los daños y la supervivencia del tallo principal. Hay que mencionar que en esta zona podría existir un tercer QTL, relacionado también con el tratamiento de -15°C, para las supervivencias viables, aunque no se ha considerado como tal al no haber superado el umbral de LOD establecido.

En función de estos resultados, en el LG1 debe haber regiones conteniendo QTLs cuya expresión parece claramente dependiente de la temperatura de helada, con una segunda zona representando la expresión en umbrales medios de helada (considerando como tal a la temperatura de -12°C), y otras dos como zonas de expresión de genes de tolerancia a las altas heladas (Figura 30).

El grupo LG3, con ocho QTLs, es el segundo grupo de ligamiento con más QTLs relacionados con la tolerancia a heladas en cámara (Figura 31). Todos ellos se localizan agrupados en uno de sus extremos, en un intervalo de unos siete cM, excepto uno de ellos (a unos 22 cM) que está asociado al carácter supervivencia del tallo

## Resultados y Discusión

principal en el tratamiento de  $-12^{\circ}\text{C}$  (T12\_SUPT), que como ya se ha citado también tiene otros dos QTLs asociados localizados en el LG1 y otro en el LG4 (Figura 32).

FIGURA 30: QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG1.

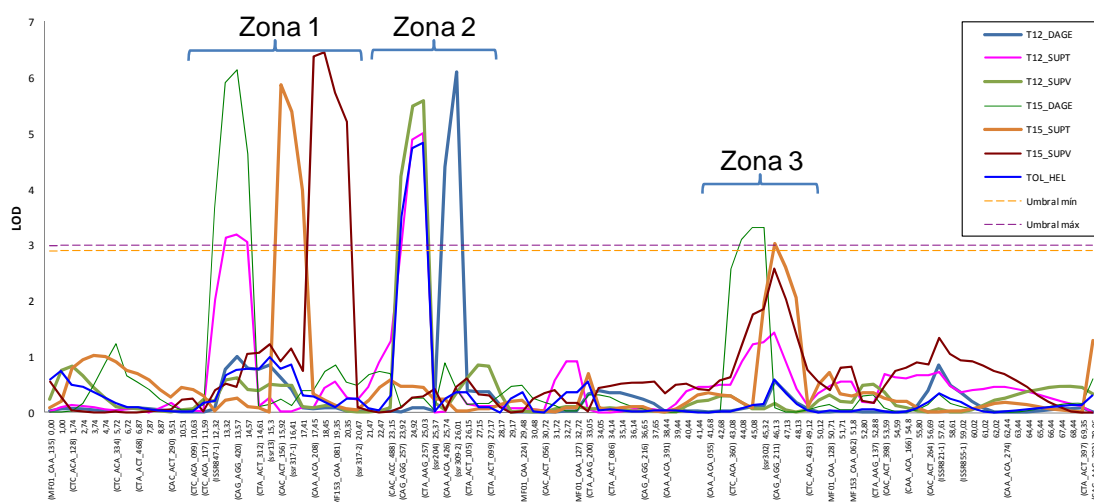


FIGURA 31: QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG3.

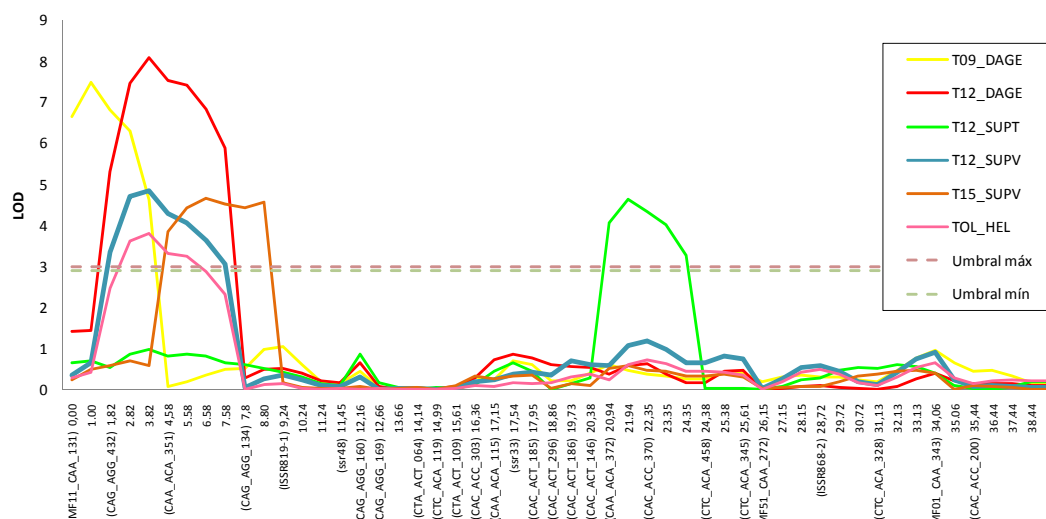


FIGURA 32: QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG4.

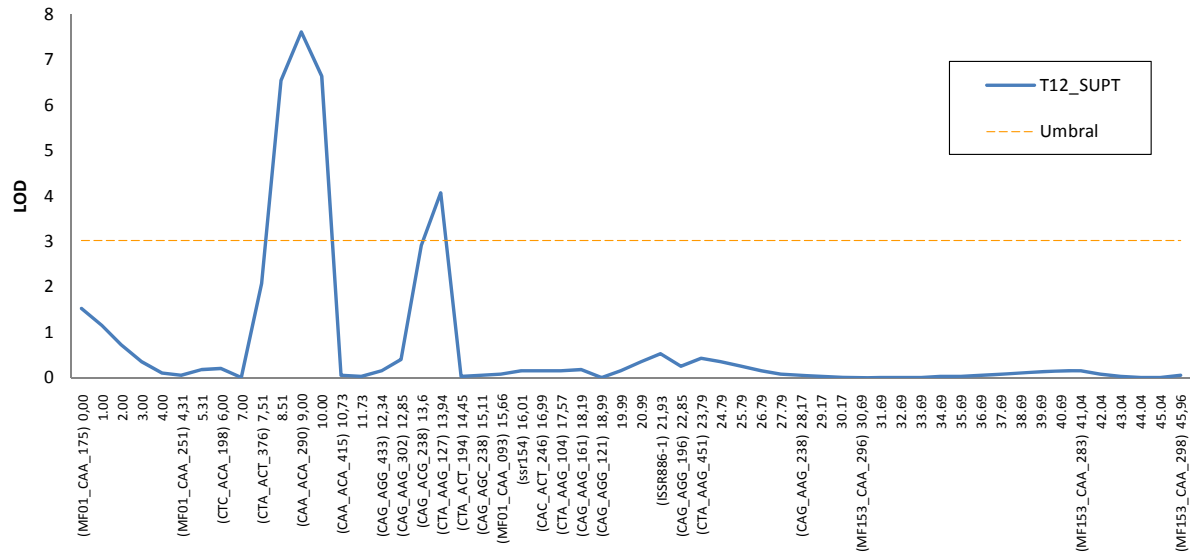
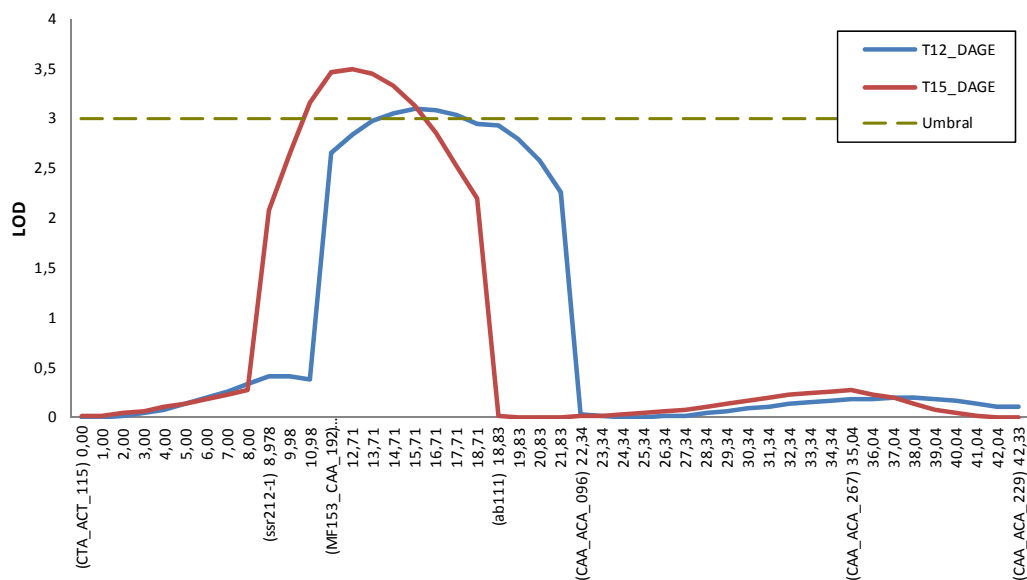


FIGURA 33: QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado en el LG12.



## *Resultados y Discusión*

Dentro del LG3, se observa que aquellos caracteres medidos en dos tratamientos de heladas diferentes colocalizan, a diferencia de lo observado en el LG1 donde se han detectado agrupamientos de QTLs diferentes en función del tratamiento de helada.

Finalmente, en el LG12 se han detectado dos QTLs aparentemente agrupados, lo que podría representar a la expresión del mismo gen o grupo de genes, ambos relacionados con daños producidos por helada, no habiéndose detectado ninguno relacionado con algún tipo de supervivencia o con la tolerancia general (Figura 33).

En cuanto al tipo de supervivencia medido (PSUPT o PSUPV), se ha tratado de buscar QTLs relacionados con un tipo u otro, de tal manera que permita establecer una relación entre el QTL y el tipo de efecto que tiene su expresión.

Así, se han detectado tres QTLs vinculados exclusivamente con la supervivencia del tallo principal (PSUPT), uno en el LG3 y dos en el LG4 en los tratamientos de helada de -12°C, sin ninguna relación aparente no sólo con la supervivencia viable a esa temperatura, sino con cualquier otro carácter evaluado en la cámara. El resto de QTLs no parece que establezcan diferencias reales entre los dos tipos de supervivencia evaluados.

Los resultados parecen indicar la existencia de al menos ocho zonas distribuidas en cuatro grupos de ligamiento con influencia en la expresión de caracteres involucrados en la reacción frente a las heladas. De ellas, tan sólo una, en el LG3, parece relacionarse con una respuesta genérica a los niveles de helada, involucrando a los tres tipos de caracteres evaluados (daños y supervivencias viables y de tallo).

Otras tres zonas, las detectadas en el LG1, pueden ser consideradas parcialmente genéricas en cuanto al tipo de caracteres expresados, pero particulares cada una de ellas de un umbral diferente de temperatura, pudiendo ser representativas de respuestas diferenciales dependientes del rigor de las heladas.



Otra zona, la del LG12 parece estar involucrada únicamente en expresión de daños, sin haberse detectado evidencias que pueda estar implicada en la expresión de supervivencia.

Las otras tres zonas son específicas de un único carácter, T12\_SUPT, para el que mayor número de QTLs se han detectado con un total de cinco, y no hay evidencias de que estén implicadas en la expresión de los demás caracteres, ni siquiera con la supervivencia viable a dicha temperatura. Este hecho parece indicar la presencia de genes involucrados en la tolerancia específica del ápice de crecimiento del tallo principal, relativamente independientes de otros genes involucrados en la tolerancia más general o referente a supervivencia global de la planta. El hecho de que esto no se haya corroborado en la temperatura de -15°C parece indicar que el umbral de tolerancia aportado por esos genes específicos del tallo puede tener un límite en función del rigor de la helada, no siendo efectivos, o no expresándose, o siendo indetectable su expresión en heladas lo suficientemente fuertes como para provocar la muerte de los tallos con independencia de la presencia o no de estos genes.

Cuando se comparan las localizaciones de los QTLs relacionados con la tolerancia a las heladas en cámara con los relacionados con el rendimiento en campo, no se observan colocalizaciones exactas, aunque sí se observa que en el LG12 los QTLs para los daños generales por helada (T12\_DAGE y T15\_DAGE) se sitúan a una distancia máxima de 5 cM respecto de los QTLs para el rendimiento en campo en Zamadueñas Invierno 2007, así como para el eje IPCA2. Sin embargo, los efectos aditivos de estos QTLs difieren en signo, así, los QTLs de rendimiento son aportados por el parental Precoz, mientras los QTLs de tolerancia a heladas en cámara de ambiente controlado son aportados por el parental WA8649041.

Del mismo modo cuando se comparan las localizaciones de los QTLs relacionados con la supervivencia en cámara de ambiente controlado, con los QTLs relacionados con la supervivencia en campo, se observan varias colocalizaciones. En el extremo del LG3 donde se ubica el QTL para el porcentaje de supervivencia respecto de las plantas nacidas en ZI08 (PSUP2\_NAS\_ZI08), también se han localizado QTLs para daños generales a -9, -12 y -15°C (T09\_DAGE, T12\_DAGE, T15\_DAGE), para

## *Resultados y Discusión*

porcentajes de supervivencia a  $-12^{\circ}\text{C}$  (T12\_PSUPT, T12\_PSUPV) y para tolerancia a las heladas (TOLHEL). Además todos los QTLs tienen el efecto aditivo con signo negativo, aportados por el parental WA8649041, por lo que parece que esta región del LG3, que está relacionada con los daños por helada y la tolerancia a las heladas en cámara de ambiente controlado, a su vez influye en la supervivencia en campo respecto de las plantas nacidas. Dado que en la supervivencia en campo, considerada como medida de la tolerancia a la dureza invernal, influyen varios factores entre los que se incluyen las bajas temperaturas (Steponkus 1978), lo observado en el LG3 parece estar concordancia con Steponkus (1978).

En el LG12, en la misma región donde se concentran QTLs para rendimiento y para supervivencias en campo, se han localizado también QTLs relacionados con los daños generales por helada a  $-12$  y a  $-15^{\circ}\text{C}$  (T12\_DAGE, T15\_DAGE). Los efectos aditivos, en este caso, no coinciden en cuanto al signo como en el LG3. Mientras que todos los QTLs de tolerancia a heladas en cámara de ambientes controlado tienen signo negativo y los QTLs de rendimiento tienen signo positivo, los dos QTLs de supervivencia en campo, PSUP2\_SEM\_ZI07 y PSUP2\_SEM\_PI08, tienen signo negativo y positivo respectivamente.

### **4.3.4.- QTLs RELACIONADOS CON LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS**

#### **4.3.4.1.- QTLs RELACIONADOS CON LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS FENOLÓGICAS**

Se han considerado un total de cinco covariables genotípicas relacionadas con la fenología: inicio de floración (INIFLO), maduración a primera vaina (MADVAI), duración de la floración (DUF), duración de la maduración de la primera vaina (DUMAD1VAI) y duración de la madurez total (DUMAT), de los cuales tres no se han ceñido a la normal según la prueba de K-S, INIFLO, MAD1VAI y DUF.

Por el método MQM, se han detectado siete QTLs distribuidos en dos grupos de ligamiento, dos para INIFLO en el LG3 y LG12, dos para DUF en el LG3 y LG12, uno para MAD1VAI en el LG12, uno para DUMAD1VAI en el LG12 y uno para DUMAT

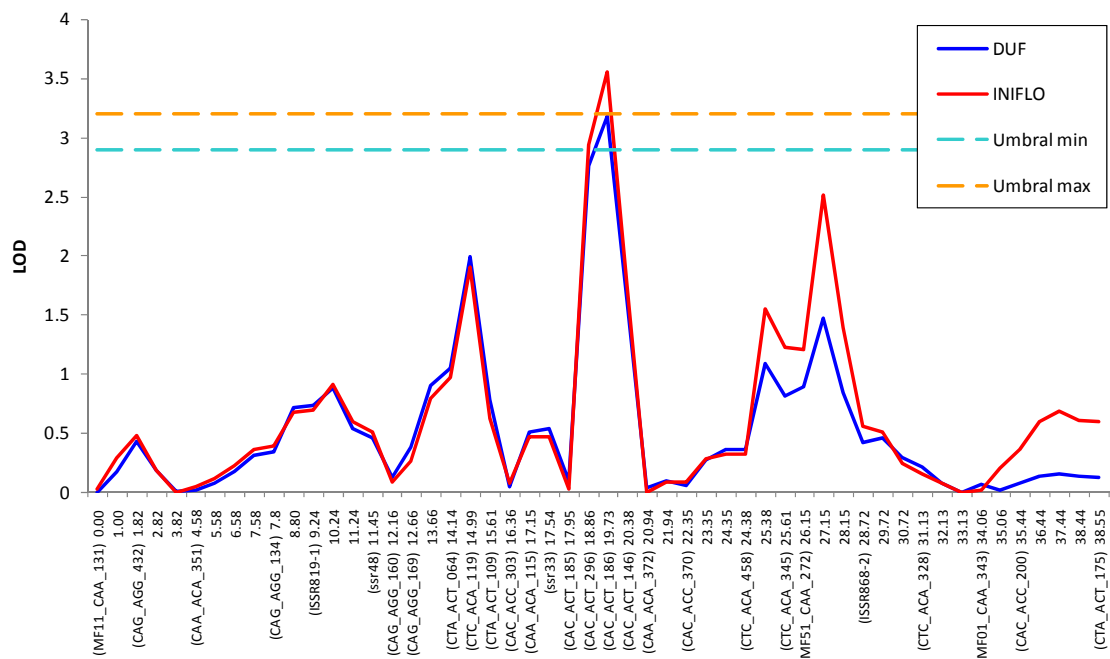
también en el LG12 (Tabla 60, Figuras 34 y 35). En el LG3 se han detectado en el mismo punto el QTL para INIFLO y el QTL para DUF, en la posición 19,73 cM ligados al marcador CAC\_ACT\_186. En el LG12 se han localizado todos los QTLs en el mismo punto, en la posición 13,71 cM ligados al marcador MF153\_CAA\_192. Esta coincidencia entre QTLs indica que la duración de la floración es dependiente de la precocidad, del inicio de la misma, o bien, que en realidad sólo sea un único gen.

TABLA 60: QTLs relacionados con las covariables genotípicas fenológicas.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador más próximo	Posición del marcador	% Expl.	Efecto aditivo	Intervalo de Confianza
DUF*	3,1	3	19,73	3,18	CAC_ACT_186	19,73	4,90	2,97	18,86 19,73
DUF*	3,1	12	13,71	27,50	MF153_CAA_192	11,70	77,60	12,39	12,71 14,71
DUMAD1VAI	2,9	12	13,71	22,80	MF153_CAA_192	11,70	76,50	10,16	12,71 14,71
DUMAT	3,1	12	13,71	20,90	MF153_CAA_192	11,70	74,10	12,03	12,71 15,71
INIFLO*	2,1	3	19,73	3,55	CAC_ACT_186	19,73	4,70	-2,76	18,86 19,73
INIFLO*	3,1	12	13,71	33,10	MF153_CAA_192	11,70	82,70	-12,00	12,71 14,71
MAD1VAI*	3,0	12	13,71	19,70	MF153_CAA_192	11,70	71,70	-5,12	12,71 15,71

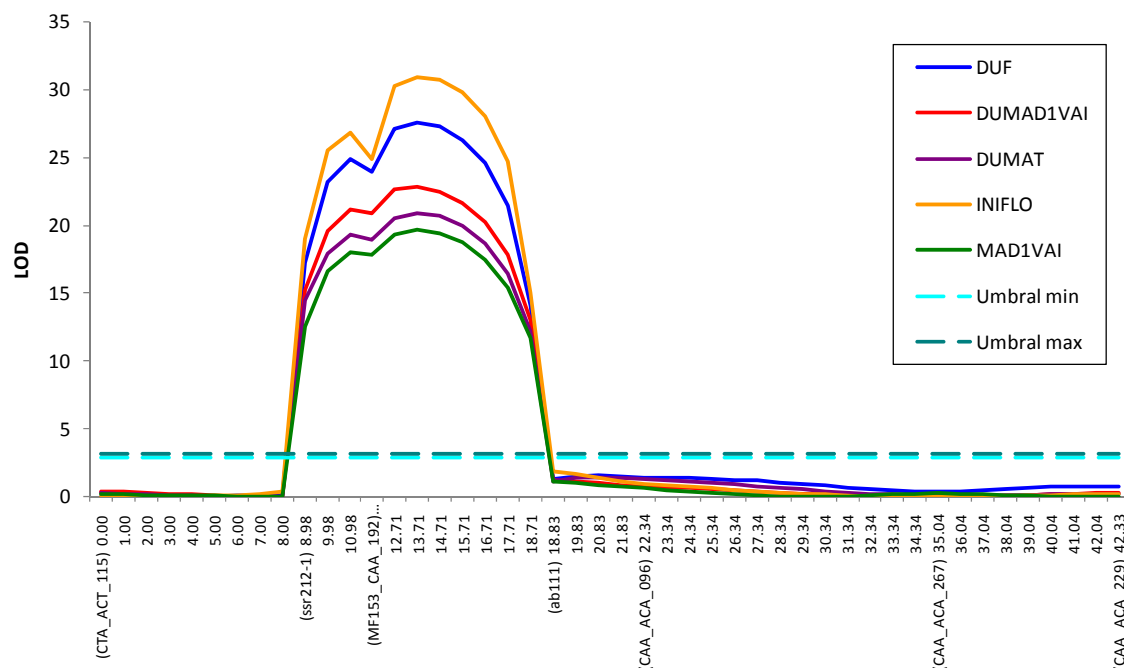
% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL. \* caracteres que no se han ceñido a la normal. DUF: duración de la floración. DUMAD1VAI: duración de la maduración de la primera vaina. DUMAT: duración de la madurez total. INIFLO: días a inicio de floración. MAD1VAI: días a maduración primera vaina.

FIGURA 34: QTLs relacionados con la fenología en el LG3.



## Resultados y Discusión

FIGURA 35: QTLs relacionados con la fenología en el LG12.



Para los caracteres que no han cumplido la normalidad, además, se ha aplicado el método de K-W. Para el inicio de la floración (INIFLO), ha resultado significativo el en el LG3 el marcador CTA\_ACT\_370 (posición 22,35 cM), y en el LG12 cinco marcadores distribuidos desde la posición 0 hasta la 22,34 cM.

También se han encontrado seis marcadores significativos para la “maduración a primera vaina” (MAD1VAI), uno en el LG3 y cinco en el LG12, éstos últimos coinciden con los marcadores significativos para INIFLO.

Por último, para la “duración de la floración” (DUF) se han detectado cinco marcadores significativos en el LG12, que a su vez coinciden con los marcadores detectados para MAD1VAI e INIFLO, distribuidos desde la posición 0 hasta la 22,34 cM.

Los “días a floración”, o “a inicio de floración”, han sido estudiado por numerosos autores, así, Sarker y col. (1999) observaron que los “días a floración” podrían estar regulados por un gen recesivo (*Sn*) que interactúa con genes menores, debido a la observación de segregaciones transgresivas en la F<sub>2</sub> de sus poblaciones de

estudio. Encontraron además, que este gen (*Sn*) estaba ligado a los genes *Scp* (patrón del color de la semilla) y *Pep* (pubescencia del pedúnculo), todos ellos situado en el LG5 del mapa genético que obtuvieron.

Fratini y col. (2007) detectaron tres QTLs relacionados con la floración en condiciones de invernadero, en el LG1, LG4 y LG10 del mapa genético que obtuvieron empleando un cruzamiento intersubspecífico de *Lens. culinaris* subsp. *culinaris* y *L. c.* subsp. *orientalis*. El QTL del LG1 le encontraron ligado al locus *Scp* (patrón del color de la semilla) en concordancia con Sarker y col., (1999).

Tullu y col. (2008) detectaron 12 QTLs relacionados con la fecha de floración, repartidos en seis grupos de ligamiento, de los cuales cuatro de ellos, localizados en su LG4, se corresponden al LG6 del presente trabajo, donde no se han detectado ningún QTL relacionado con la fecha de floración. Otro de los 12 QTLs lo detectaron en su LG1, que también se corresponde con el LG1 del presente trabajo, donde tampoco se ha detectado ninguno relativo a la fecha de floración.

Un estudio más elaborado basado en 25 cruzamientos concluyó que los días a floración maduración tenían un control poligénico (Emani 1996).

Actualmente se está desarrollando un proyecto de investigación en la Universidad de Tasmania, supervisado por el Dr. Jim Weller y col., que trata del control genético en floración de la lenteja, y donde parten de que el control genético de la floración está regulado por varios QTLs, entre los cuales han identificado un gen mendeliano (Weller y col. 2012).

En nuestro caso, la distribución de frecuencias obtenida para el “inicio de floración” (Figura 36) parece indicar que el “inicio de la floración” está regulado principalmente por un gen mayor bajo la influencia de genes menores, lo que estaría también en concordancia con Sarker y col. (1999).

En consecuencia se realizó un nuevo mapa genético, incluyendo el “inicio de la floración” como un marcador más, con el objetivo de intentar localizar el posible gen

## Resultados y Discusión

mayor que codifica para el inicio de la floración. En la Figura 37 se presenta el resultado obtenido, localizándose INIFLO en el LG12, en la posición 13,5 cM. En esta región del LG12 es donde se han localizado la mayoría de QTLs detectados en este trabajo hasta ahora, seis QTLs relacionados con rendimiento en campo, cinco QTLs relacionados con supervivencias en campo y cuatro QTLs relacionados con la fenología del ciclo reproductivo.

FIGURA 36: Distribución de frecuencias para el carácter inicio de floración.

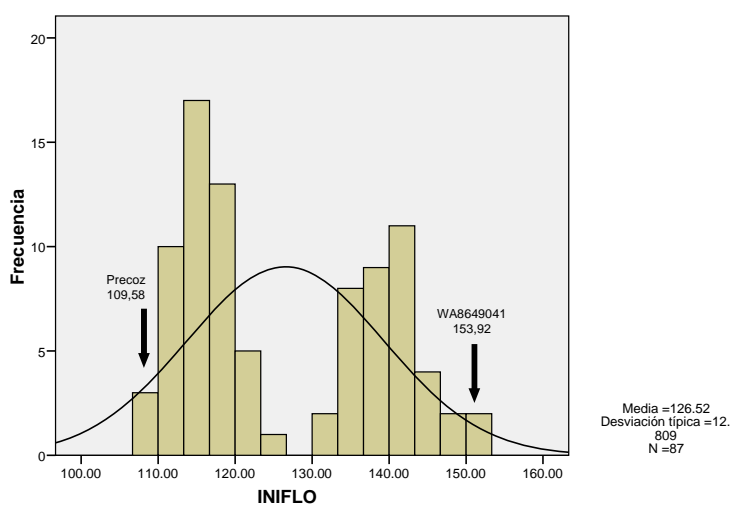
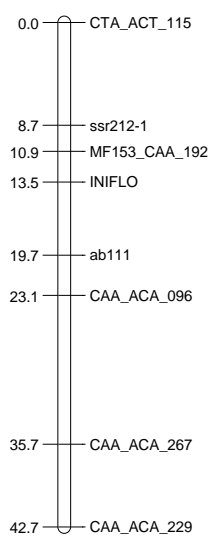


FIGURA 37: Localización del carácter inicio de floración en el LG12.



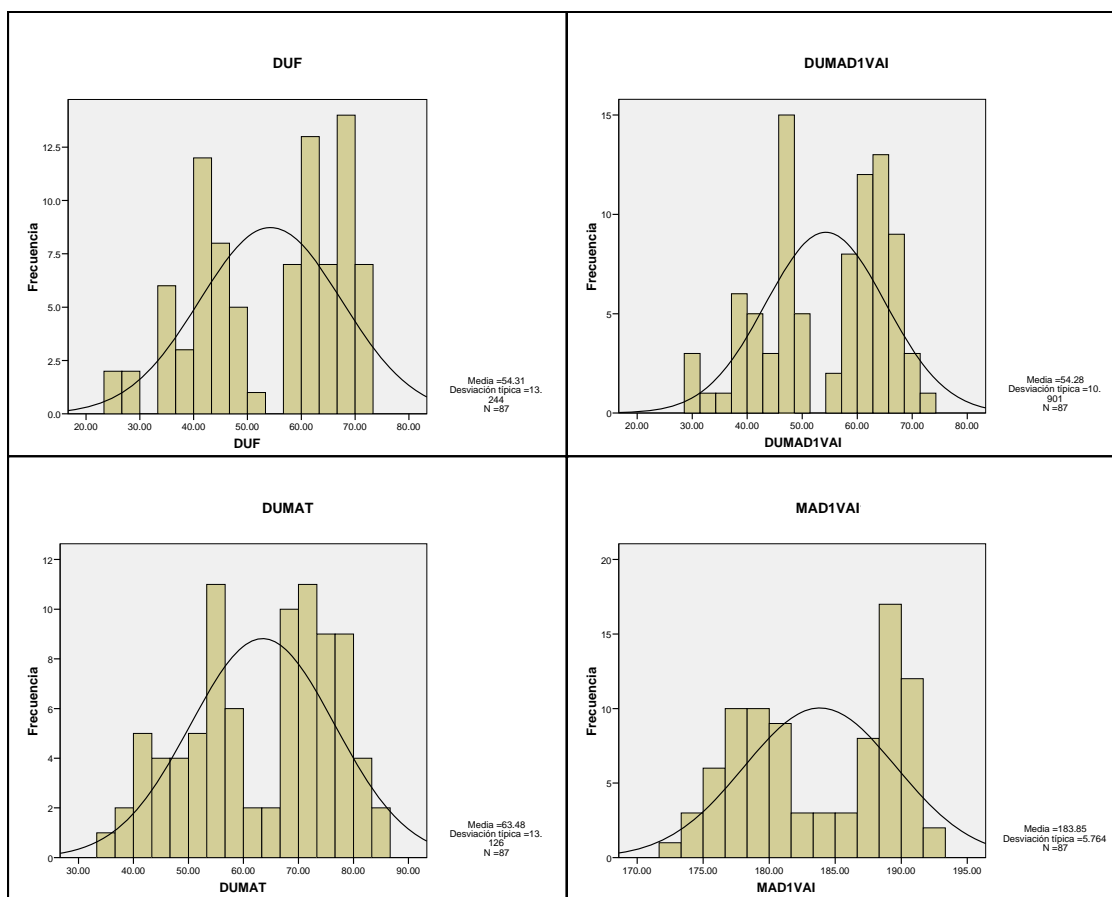
La coincidencia de localización del carácter INIFLO y los QTLs relacionados con la supervivencia en campo, que es empleada como una medida de la tolerancia a la dureza invernal, concuerda con los resultados obtenidos por Lejeune-Hénaut y col. (2008) en guisante, en el que el locus de floración *Hr* colocalizaba con un QTL mayor relacionado con la tolerancia a las heladas en cámara de ambiente controlado y en campo, concluyendo que los resultados que obtuvieron apoyaban la hipótesis del importante papel que juega la respuesta al fotoperiodo en la tolerancia a las heladas, ya que la sensibilidad a las heladas disminuye después de la iniciación floral (Fowler y col. 2001). El locus *Hr* es responsable de la respuesta cualitativa de la iniciación floral frente al fotoperiodo, permaneciendo las plantas en estado vegetativo hasta que la duración del día sea de 13,5 h. (Lejeune-Hénaut y col. 1999), observando que estas plantas además eran tolerantes a las heladas, al igual que lo observado en la población Precoz x WA8649041, donde el parental tolerante a las heladas es el más tardío en cuanto a la floración, y los resultados obtenidos en este trabajo apoyarían un poco más la hipótesis mencionada.

Además los resultados obtenidos también estarían en concordancia con el proyecto que están llevando a cabo Weller y col. (2012).

El resto de covariables genotípicas fenológicas, a pesar de que la “duración de la maduración a primera vaina” (DUMAD1VAI) y la “duración de la floración” (DUF) se ciñeron a la normal, según se muestra en la Figura 38, parece que, en función de las distribuciones de frecuencias, el posible gen mayor que regula el inicio de la floración también regula las otras covariables relacionadas con los periodos de floración y maduración.

Considerando los efectos aditivos de los QTLs relacionados con la fenología, se observa que el inicio de la floración y la maduración a primera vaina son aportados por el parental WA8649041 (siendo el más importante el localizado en LG12 con un valor de -12), mientras que los efectos aditivos de los QTLs de las covariables relacionadas con duraciones de la floración, de la maduración a primera vaina y de la madurez total son aportados por el parental Precoz (siendo también los de mayor efecto aditivo los del LG12).

FIGURA 38: Distribución de frecuencias de la duración de la floración, duración de la maduración a primera vaina, duración de la maduración total y días a maduración a primera vaina.



#### 4.3.4.2.- QTLs RELACIONADOS CON LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS MORFOLÓGICAS

Se han considerado un total de cinco covariables genotípicas relacionadas con la morfología de la planta: longitud de la planta (LON\_PLA), longitud a primera vaina de la planta (LONVAI\_PLA), número de flores por pedúnculo (FLOR\_PEDU), número de ramas principales (RAMAS) y tamaño del foliolo (TAMFOL), de los cuales dos no se han ceñido a la normal según la prueba de K-S, LON1VAI y TAMFOL.

Se han detectado nueve QTLs, por el método MQM, dos para cada carácter, salvo para LON1VAI, para el que se ha obtenido uno solo en el LG12. Para LON\_PLA



se han obtenido dos, el en LG3 y LG12. Para FLOR\_PEDU y RAMAS, se han obtenido otros dos QTLs por cada carácter, en los LG8 y LG12. Y para TAMFOL se han detectado dos, en el LG6 y LG11. Todos los QTLs detectados en el LG12 tienen posición coincidente, en cambio los dos QTLs detectados en el LG8 no han coincidido en posición (Tabla 61, Figuras 39, 40, 41 y 42).

Como ha ocurrido en otras covariables genotípicas, en el LG12 es donde se han detectado la mayoría de los QTLs relacionados con la morfología, cuatro de nueve QTLs totales detectados, todos situados en la posición 13,71 cM, salvo para RAMAS que se ha localizado en la posición 12,71 cM, si bien todos tienen como marcador más próximo MF153\_CAA\_190.

TABLA 61: QTLs relacionados con las covariables genotípicas morfológicas.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador más próximo.	Posición del marcador	% Expl.	Efecto Aditivo	Intervalo de confianza
LON_PLA	3,0	3	2,82	5,21	CAG_AGG_432	1,80	2,0	-2,97	0,00 2,82
LON_PLA	3,0	12	13,71	12,80	MF153_CAA_192	11,70	42,0	-4,49	10,98 15,71
LON1VAI_PLA*	3,2	12	13,71	23,00	MF153_CAA_192	11,70	76,0	-5,85	12,71 14,71
FLOR_PEDU	3,0	8	12,34	4,21	CTC_ACA_212	11,30	13,5	0,08	9,80 14,34
FLOR_PEDU	3,0	12	13,71	9,12	MF153_CAA_192	11,70	43,3	-0,15	10,98 15,71
RAMAS	2,9	8	5,90	4,45	CAC_ACT_378	4,90	19,6	-0,13	2,00 7,90
RAMAS	2,9	12	12,71	3,65	MF153_CAA_192	11,70	18,8	-0,13	8,98 17,71
TAMFOL*	3,0	6	27,55	6,38	CTA_AAG_197	26,55	28,7	0,37	25,65 28,55
TAMFOL*	3,0	11	9,51	3,69	CTA_ACT_167	9,50	15,1	-0,26	6,50 12,51

% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL.\* caracteres que no se han ceñido a la normal. LON\_PLA: longitud de la planta. LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina. FLOR\_PEDU: número de flores por pedúnculo. RAMAS: número de ramas principales. TAMFOL: tamaño del foliolo.

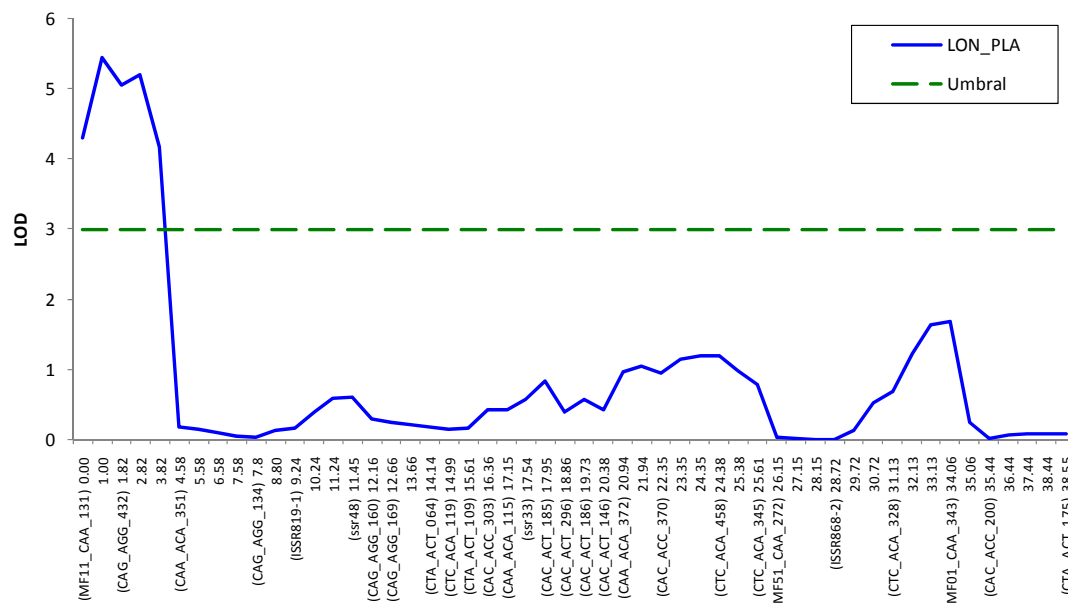
Para los caracteres que no han cumplido la normalidad, además, se ha aplicado el método de K-W. Para la longitud a primera vaina (LON1VAI\_PLA), se han detectado cinco marcadores significativos en el LG12, distribuidos desde la posición cero hasta la posición 22,34 cM, entre los cuales se halla el marcador MF153\_CAA\_192 (posición 11,70 cM), que es el marcador al que está ligado al QTL, detectado por el método MQM (posición 13,71 cM), para el mismo carácter (Tabla 61).

Para el tamaño del foliolo (TAMFOL) también se han encontrado 15 marcadores significativos, todos ellos en el LG6, desde la posición 7,57 cM hasta la 11,34 cM.

## Resultados y Discusión

Aunque no hayan coincidido exactamente con el marcador al que está ligado el QTL detectado por el método MQM.

FIGURA 39: QTL relacionado con la morfología detectado en el LG3.



Los efectos aditivos obtenidos para los QTLs detectados para la longitud de la planta, longitud a primera vaina y el número de ramas principales muestran que la componente aditiva positiva se debe al parental WA8649041, puesto que en todos los QTLs detectados tienen signo negativo, lo que está en concordancia con lo observado en campo, pues dicho parental alcanzó mayor longitud y ramificó de manera más profusa que el parental Precoz. Para el resto de caracteres han participado ambos parentales, al apreciarse efectos aditivos de signo contrario para el mismo carácter (Tabla 61).

FIGURA 40: QTL relacionado con la morfología detectado en el LG6.

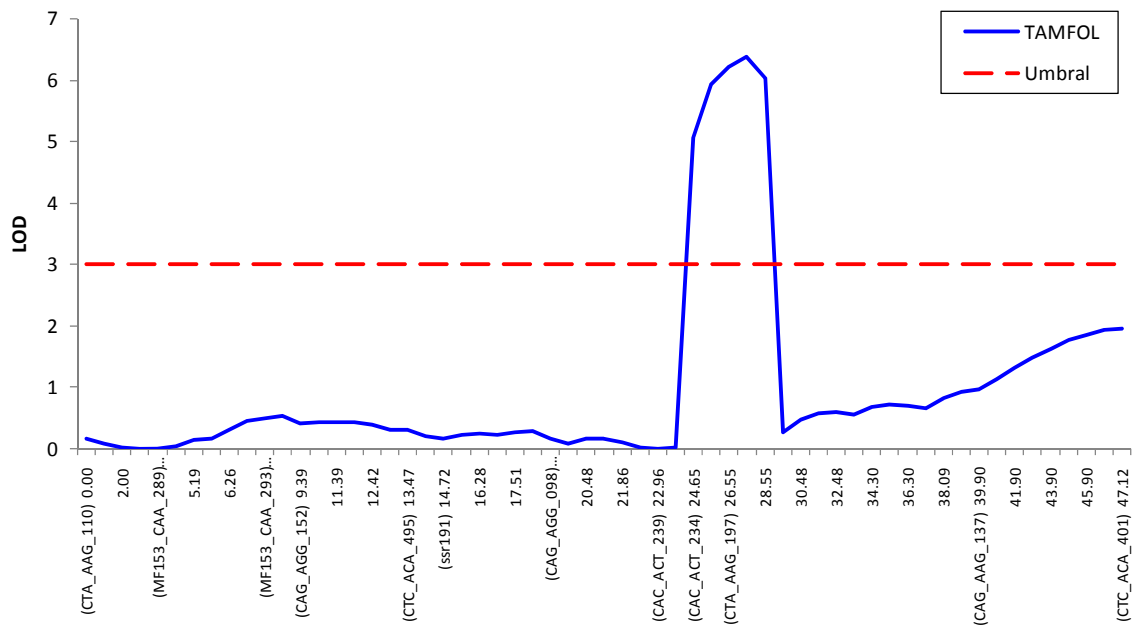
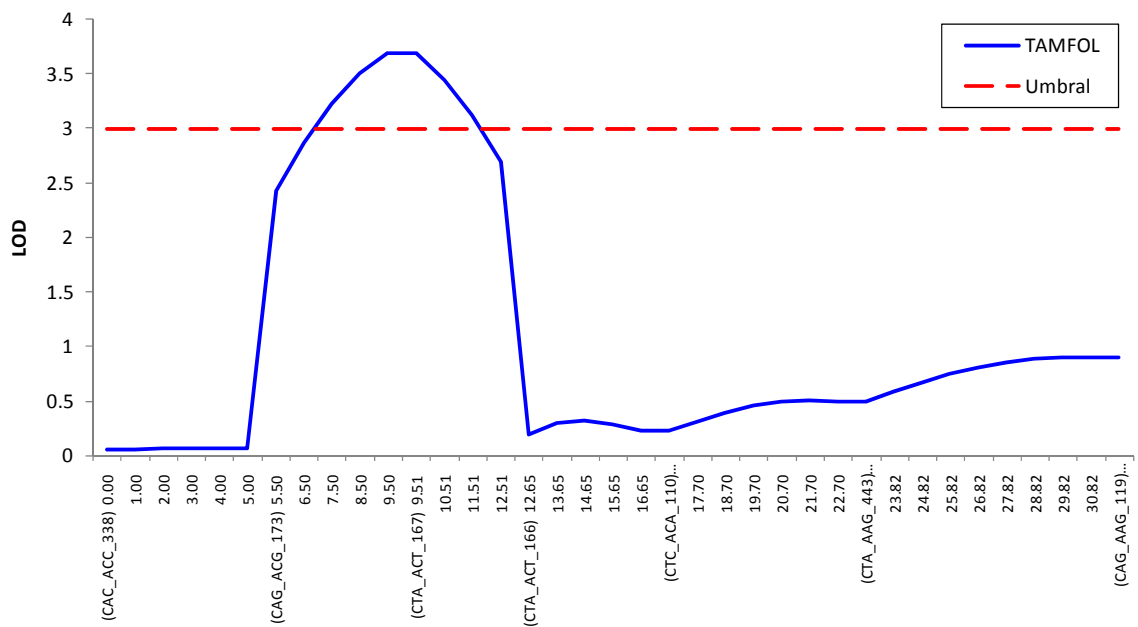
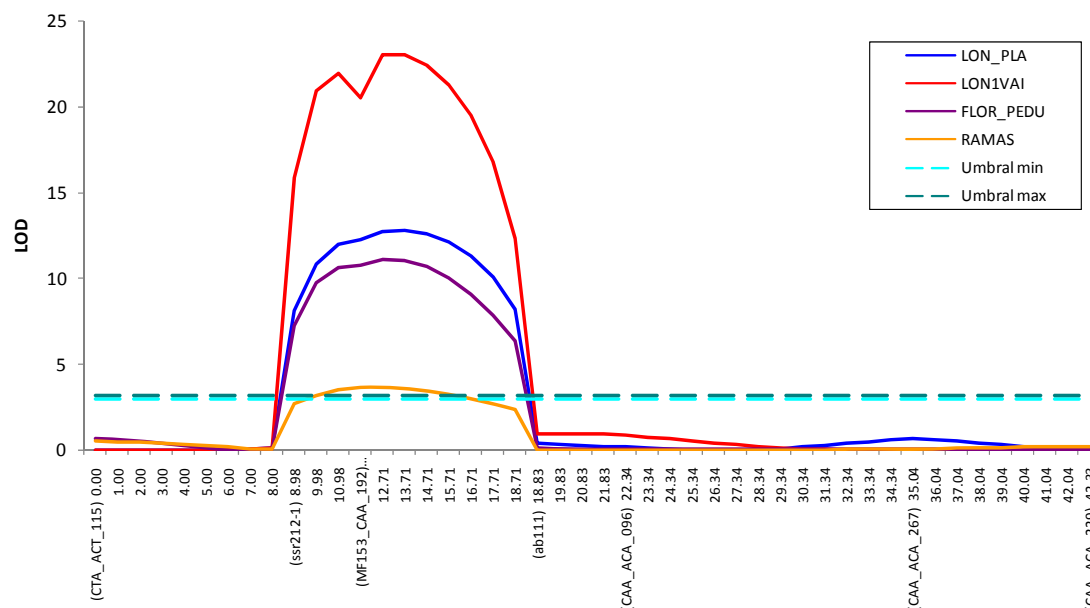


FIGURA 41: QTL relacionado con la morfología detectado en el LG11.



## Resultados y Discusión

FIGURA 42: QTLs relacionados con la morfología detectado en el LG12.

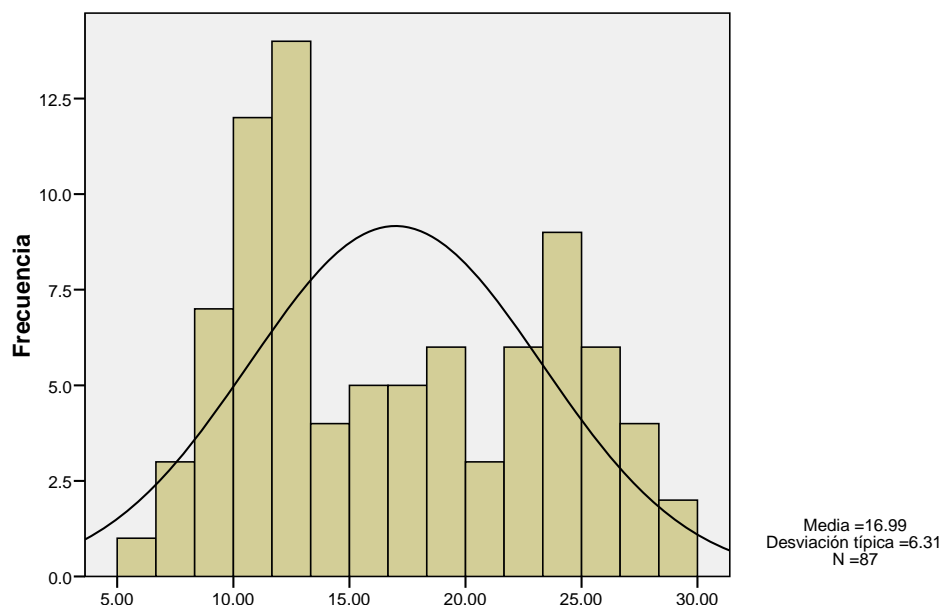


Kumar (2002) y Mishra (2007) observaron que la longitud de la planta parece presentar un comportamiento monogénico, siendo el alelo responsable de baja altura recesivo, proponiendo el símbolo *Ph* para el gen dominante. Por otro lado, Fratini y col. (2007) detectaron tres QTLs relacionados con la longitud de la planta en el LG1, LG3 y LG5, empleando un cruzamiento intersubespecífico de *Lens culinaris* subsp. *culinaris* y *L. c.* subsp. *orientalis* en condiciones de invernadero. Los resultados obtenidos en este trabajo están más en concordancia con Fratini y col. (2007), apoyando que haya un comportamiento oligogénico. Sin embargo, para el carácter longitud a primera vaina (LON1VAI), del que sólo se ha detectado un QTL, en función de la distribución de frecuencias (Figura 43) si se podría sospechar que estuviera regulado por un gen mayor bajo la influencia de genes menores.

Tullu y col. (2008), empleando RILs en  $F_5$  detectaron cinco QTLs para la longitud de la planta, de los que ninguno de ellos se expresaron consistentemente entre ambientes. También, localizaron los QTLs en un mapa con microsatélites comunes a los empleados en el mapa del presente trabajo, lo que permite comparar ambos mapas. Así, tres de los QTLs para la longitud de la planta detectados por Tullu y col. (2008) estarían localizados en el LG1, LG5 y LG6 del mapa del presente trabajo, no coincidiendo con ninguno de los QTLs detectados en este trabajo para este carácter. Esto se puede deber a

diversas causas, ya que no se ha empleado el mismo cruzamiento en ambos estudios, así como las localidades de ensayo. También hay que añadir que Tullu y col. (2008) midieron la altura de la planta en plena floración (al menos el 50% de las plantas con una flor abierta), mientras que en el presente trabajo las alturas se midieron al final de la floración, cuando la planta ya no desarrolla más pisos florales y alcanza su altura definitiva. Esto debe ser tenido en cuenta, ya que la detección de QTLs para el mismo carácter tomados en diferentes estados de desarrollo varía, pues las acciones génicas pueden ser diferentes durante los diferentes estados de desarrollo (Yan y col. 1998).

FIGURA 43: Distribución de frecuencias del carácter longitud a primera vaina (LON1VAI).



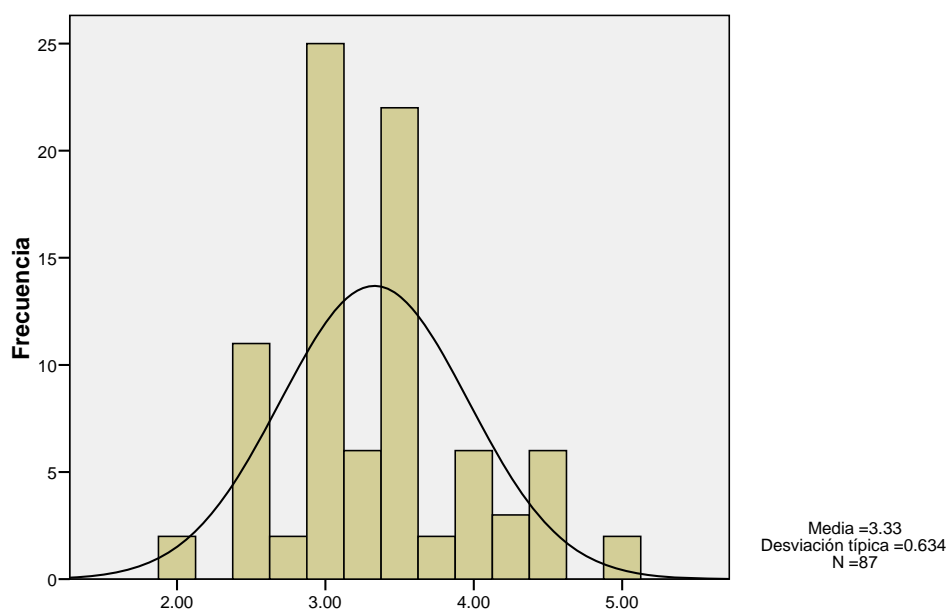
El tamaño del foliolo (*Blf*) está considerado un carácter cualitativo donde los foliolos anchos tienen dominancia incompleta sobre los estrechos (Yadav cita a Kumar 2002, Mishra 2007). Para el tamaño del foliolo (TAM\_FOL), en este trabajo se han detectado dos QTLs localizados en el LG6 y LG11, mientras que Kahraman y col. (2010) encontraron un QTL mayor para el área foliar. Este carácter puede dar idea del tamaño del foliolo, ya que todos los genotipos empleados tanto en el presente trabajo como por Kahraman y col. (2004a) no segregaban para el número de foliolos por hoja siendo además genotipos coincidentes con los del presente trabajo (WA8649041 y Precoz). Así estos autores detectaron este QTL relacionado con el área foliar en el

## Resultados y Discusión

mismo grupo de ligamiento que un QTL detectado para la dureza invernal (Kahraman y col. 2004a), y además encontraron relación entre en área de la hoja y la tolerancia a la dureza invernal medida como supervivencia a la salida del invierno, estableciendo un coeficiente de correlación de 0,75. En el presente trabajo también se ha detectado un QTL relacionado con la dureza invernal en el mismo grupo de ligamiento que el del tamaño del foliolo, a tan sólo 7 cM aproximadamente, con la salvedad este QTL sólo se expresa en un ambiente, Zamadueñas Invierno 2006.

Según lo expuesto parece ser que en función de los resultados obtenidos, no se puede afirmar que uno de los dos QTLs detectados, corresponda con el QTL mayor descrito por Kahraman y col. (2004a), que podría ser el gen *Blf* al que se refieren Kumar y col. (2005b) y Mishra y col. (2007). En función de la distribución de frecuencias obtenida (Figura 44), parece que hay un gen mayor que regula este carácter junto con otros genes menores.

FIGURA 44: Distribución de frecuencias del carácter tamaño del foliolo (TAMFOL).



Fratini y col. (2007) detectaron para el carácter número de ramas a la altura del primer nudo cuatro QTLs, en los grupos de ligamiento 3, 4 y 8, para el material vegetal y condiciones explicadas anteriormente, mientras que en el presente trabajo, para el

carácter número de ramas primarias (RAMAS) se detectaron dos QTLs en el LG6 y LG11.

Para el número de flores por pedúnculo (*Fn*), Khosravi y col. (2010) observaron una herencia monogénica donde el alelo de dos flores por pedúnculo fue dominante sobre el de tres flores, y además también observó que dicho carácter está ligado a la pubescencia del pedúnculo (*Pub*), presencia de zarcillo (*Tn1*) y color de la flor (*P*), otros tres caracteres monogénicos. Dichos caracteres fueron establecidos en un grupo de ligamiento en el siguiente orden *Pub-Tn1-Fn-P*. Además, estos autores propusieron, junto con el mapa publicado por Kumar y col. (2005b), un grupo de ligamiento donde quedaban establecidos los siguientes caracteres morfológicos en el siguiente orden *P-Fn-Tn1-Hl-Pub-Gl-Ph*. Donde *Hl*, es el símbolo del número de foliolos, *Gl*, es el color del follaje y *Ph* es la altura de la planta, referida en este trabajo como longitud de la planta (Kumar 2002, Mishra 2004).

Como se ha visto, en nuestro estudio se han localizado QTLs relacionados con la longitud de la planta en el LG3 y LG12, y QTLs relacionados con el número de flores por pedúnculo en el LG8 y LG12. Por ello, en función de la propuesta de Khosravi y col. (2010), y con los QTLs detectados en este trabajo, para los caracteres en común, cabe la posibilidad de que los grupos de ligamiento implicados (LG3, LG8 y LG12) pudieran ser en realidad uno solo, ya que el mapa genético obtenido posee más grupos de ligamiento que número parejas de cromosomas que posee la lenteja. O también, dado que en el mapa genético del presente trabajo sólo hay información a cerca de la longitud de la planta y el número de flores por pedúnculo, podría ser el LG12 donde se encuentran los caracteres que Khosravi y col (2010) proponen que están ligados.

De todos los QTLs detectados para covariables morfológicas, sólo el del LG6, relacionado con el tamaño del foliolo, se colocaliza con un QTL de rendimiento en campo para el ambiente particular ZI06, aunque no coinciden los signos de los efectos principales, el resto no han mostrado coincidencias con los QTLs de rendimiento en campo en cuanto a localización. Si bien, los situados en el LG12 se sitúan en zonas adyacentes a los QTLs de rendimiento.

## *Resultados y Discusión*

Cuando comparamos los QTLs de supervivencia en campo con los QTLs de covariables morfológicas, se observan colocalizaciones entre los QTLs del número de ramas principales (LG8 y LG12) y la supervivencia respecto de las semillas sembradas en tres de los ambientes de siembra invernal, ZI07 y PI08 (LG12), y ZI08 (LG8). Los QTLs del LG8, de ambos caracteres tienen signos negativos, son aportados por el parental WA8649041, mientras que los QTLs del LG12 para las supervivencias tienen efectos aditivos positivos y negativos, y para el número de ramas principales tiene signo negativo. El hecho de haberse colocalizado estos caracteres podría guardar cierta relación con lo enunciado por Erskine y Muelhbauer (1995) referente a que los genotipos tolerantes adaptados a las siembras invernales presentan un hábito de crecimiento postrado, pequeño tamaño de semilla, y floración y madurez tardía.

Las colocalizaciones con la tolerancia a las heladas en cámara de ambiente controlado, también reflejan varias coincidencias. El QTL de la longitud de la planta (LON\_PLA) del LG3, se colocaliza con los QTLs de daños generales por helada a -12 y -15°C (T12DAGE, T15DAGE). También el QTL de la longitud de la planta (LON\_PLA) del LG12 se colocaliza con el QTL de la longitud a primera vaina (LON1VAI\_PLA) y con los QTLs de daños generales por helada a -12 y -15°C (T12DAGE, T15DAGE). Esta relación entre las longitudes de la planta y los daños generales por helada puede estar indicando lo observado durante los ensayos, en los que las partes de la planta más altas fueron las más afectadas por la helada, del tal forma que a medida que fueron más agresivos los tratamientos de helada, se vio que los daños por la helada fueron apareciendo de las partes superiores hacia las partes más bajas. Además, los signos de los efectos aditivos de todos los QTLs en cuestión tienen todos signos negativos, es decir, son aportados por el parental WA8649041.

Erskine y Muelhbauer (1995), observaron que los genotipos tolerantes a la dureza invernal mostraron hábito de crecimiento postrado, lo que estaría en concordancia con los resultados aquí obtenidos. Por consiguiente, podría tratarse de dos QTLs, uno en el LG3 (posición aproximada de 3 cM) y otro en el LG12 (posición entre 13 y 15 cM aproximadamente), y lo que observa es la asociación entre la longitud de la planta y los daños por la helada debido a que cuando se aplican heladas en cámara de ambiente controlado, las partes de la planta más altas son las más afectadas por la



helada (sobre todo cuanto más altas son las plantas), mientras que las partes más bajas se ven menos afectadas, posiblemente por el microambiente que crean las propias plantas y la influencia de la proximidad al sustrato.

Las covariables fenológicas inicio de floración (INIFLO), maduración a primera vaina (MAD1VAI), duración de la floración (DUF), duración de la maduración a primera vaina (DUMAD1VAI) y duración de la maduración total (DUMAT), cuyos QTLs se han detectado en la posición 13,71 cM del LG12, se han colocalizado con la longitud total (LON\_PLA), con la longitud a primera vaina (LON1VAI\_PLA) y con el número de ramas principales (RAMAS).

Los coeficientes de correlación de Pearson calculados entre las covariables fenológicas y morfológicas cuyos QTLs se colocalizan muestran relaciones significativas interesantes, tal que cuanto más tardía es una planta, mayor es la longitud y la longitud a primera vaina. Cuanto más largos son los periodos de floración y maduración, menor es la altura alcanzada (Tabla 62).

TABLA 62: Coeficientes de correlación de Pearson entre distintas covariables genotípicas.

<b>COVARIABLES</b>	<b>LON_PLA</b>	<b>LON1VAI_PLA</b>
<b>INIFLO</b>	0,68 *	0,88 *
<b>MAD1VAI</b>	0,66 *	0,78 *
<b>DUF</b>	-0,67 *	-0,86 *
<b>DUMAD1VAI</b>	-0,65 *	-0,84 *
<b>DUMAT</b>	-0,67 *	-0,84 *

INIFLO: inicio de floración, MAD1VAI: maduración a primera vaina, DUF: duración de la floración, DUMAD1VAI: duración de la maduración a primera vaina, DUMAT: duración de la maduración total, LON\_PLA: longitud total, LON1VAI\_PLA: longitud a primera vaina. \* significativo.

Por consiguiente, en función de estos resultados, parece que las plantas que florecen antes, lo hacen porque la iniciación floral ocurre con menor número de nudos desarrollados, lo que se traduce en una menor longitud a primera vaina. Esto explicaría la colocalización de los QTLs relacionados con ambos tipos de covariables, días a floración y longitudes, que podrían ser realmente reflejo de la expresión del mismo gen pero evaluado de distinta forma.

#### 4.3.4.3.- QTLs RELACIONADOS CON LAS COVARIABLES GENOTÍPICAS RELACIONADAS CON EL RENDIMIENTO

Para la detección de QTLs se han considerado cinco covariables genotípicas relacionadas con el rendimiento, biomasa producida por planta (BIOM5PL), índice de cosecha por planta (INDCOS5PL), peso de la paja producida por planta (PPAJA\_5), peso de la semilla producida por planta (PSEM\_5) y peso de mil semillas (P1000). Todas estas covariables se ciñeron a la normal según la prueba de K-S.

Se han detectado seis QTLs, por el método MQM, todos ellos localizados en el LG12, salvo un QTL localizado en el LG6 relacionado con el peso de mil semillas, siendo este carácter el único para el que se han detectado dos QTLs. Como se aprecia en la Tabla 63 y Figura 43, los QTLs del LG12 se encuentran bastante agrupados entre las posiciones 9 y 14 cM aproximadamente, donde se encuentran ligados a los marcadores contiguos SSR212-1 y MF153\_CAA\_192, grupo de ligamiento que, como ya se ha visto con otros tipos de covariables genotípicas, es donde se concentran la mayoría de QTLs.

TABLA 63: QTLs relacionados con las covariables genotípicas relacionadas con el rendimiento.

Carácter	Umbral	Grupo de ligamiento	Posición QTL	LOD	Marcador más próximo.	Posición del marcador	% Expl.	Efecto aditivo	Intervalo de confianza
BIOM5PL	2,9	12	14,71	7,43	MF153_CAA_192	11,70	31,1	-13,33	11,71 16,71
INDCOS5PL	3,1	12	9,98	9,35	ssr212-1	9,00	40,2	3,93	8,00 10,98
PPAJA_5	3,0	12	14,71	12,70	MF153_CAA_192	11,70	47,2	-16,95	12,71 15,71
PSEM_5	3,0	12	8,98	9,36	ssr212-1	9,00	39,6	3,82	7,00 10,98
P1000	2,9	6	22,96	10,40	CAC_ACT_239	23,00	39,0	3,25	21,86 23,96
P1000	2,9	12	14,71	4,90	MF153_CAA_192	11,70	16,5	2,19	9,98 18,71

% Expl: porcentaje de la varianza explicada por el QTL. K-W: Kruskal –Wallis.

BIOM5PL: biomasa de 5 plantas. INDCOS5PL: índice de cosecha de 5 plantas. PPAJA\_5: peso de la paja producida por planta. PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta. P1000: peso de mil semillas.

En el LG6 se ha detectado un único QTL relacionado con el peso de mil semillas, el cual coincide exactamente con otro QTL relacionado con el porcentaje de

supervivencia en campo respecto de las semillas sembradas en un ambiente particular, ZI06 (Figura 45).

FIGURA 45: QTL relacionado con el peso de mil semillas detectado en el LG6.

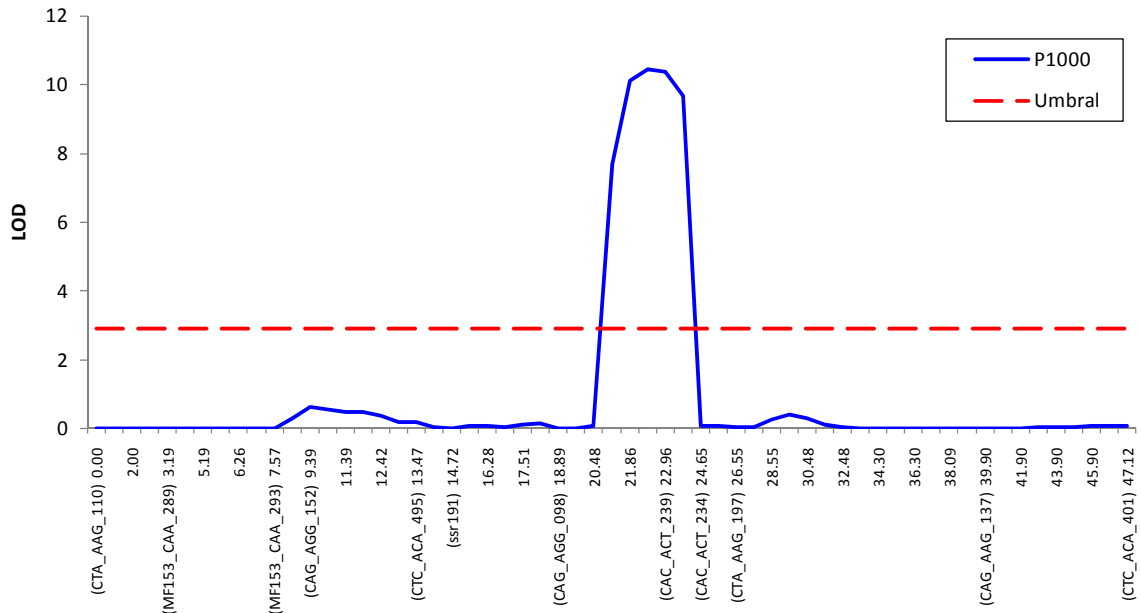
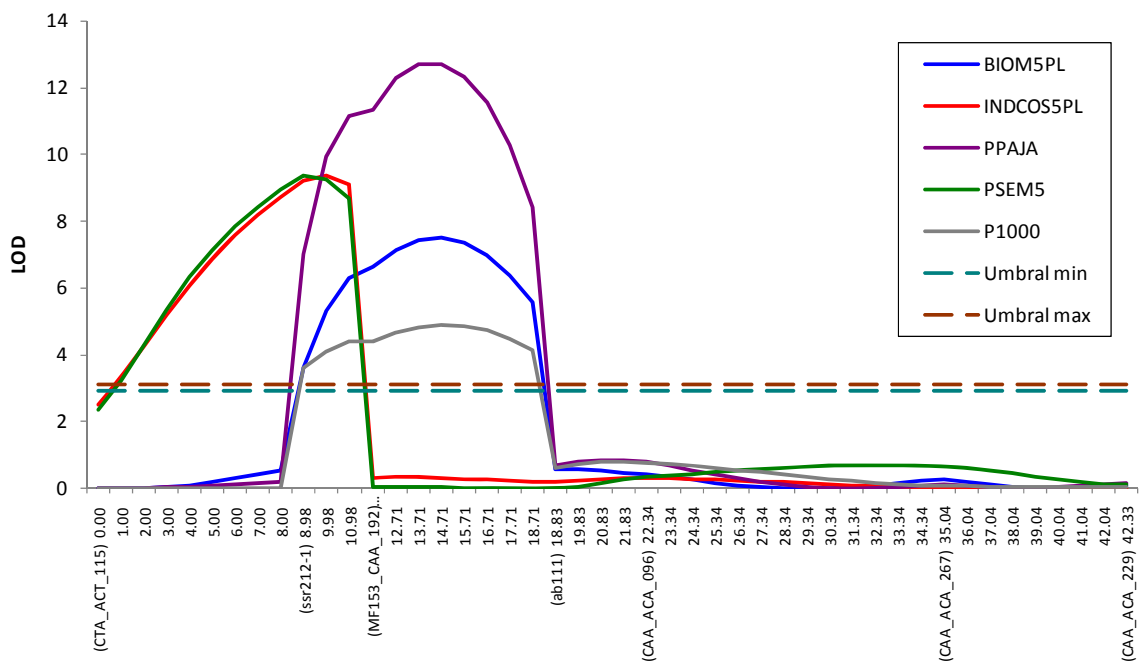


FIGURA 46: QTLs relacionados con las covariables que relacionadas con el rendimiento detectado en el LG12.



## *Resultados y Discusión*

Para peso de la semilla, Ladizinsky (1979) observó variación continua en una  $F_2$ , Abbas y col. (1991) realizaron un estudio de QTLs para analizar esa variación continua en poblaciones segregantes, observando que el peso de la semilla es un carácter poligénico donde los alelos para bajo peso de semilla presentan dominancia parcial. Tahir y Muelhbauer (1995) detectaron tres QTLs para el peso de la semilla, el mismo número que los detectados por Fratini y col. (2007) en un cruzamiento de *L. c. subp. culinaris* por *L. c. subp. orientalis*, en el LG1, LG3 y LG6. En el presente trabajo se han detectado dos QTLs para el peso de mil semillas, aunque no se pueden hacer comparaciones con los otros autores debido a la falta de marcadores comunes.

Para el resto de caracteres relacionados con el rendimiento cuyos QTLs se ha detectado un QTL por carácter, todos en el LG12, en la región donde se han detectado la mayoría de QTLs encontrados en este trabajo (Tabla 63, Figura 46), concretamente ligados a los marcadores contiguos, SSR212-1 (posición 9,0 cM) y MF153\_CAA\_192 (posición 11,7 cM).

En función de los valores de los efectos aditivos, todos los efectos positivos son aportados por el parental Precoz, salvo la biomasa por planta y el peso de la paja por planta, que se deben al parental WA8649041, coherente con lo observado en campo referente a que este último parental. Su baja producción de semilla en campo, alta producción de paja, y gran altura, frente al mayor tamaño de la semilla, la poca producción de paja y la menor longitud del parental Precoz, son coherentes con los efectos aditivos obtenidos para los QTLs relacionados con el peso de mil semillas y el índice de cosecha.

Basándonos en las características de los parentales observadas en campo, que se acaban de comentar, y teniendo en cuenta la colocación de los QTLs del LG12, tres situados en la posición 14,71 cM, y dos entre las posiciones 9,0 y 10,0 cM aproximadamente, con idénticos intervalos de confianza (Tabla 63), es posible que en realidad pudieran ser dos QTLs que se manifiestan bajo diferentes covariables, todas ellas relacionadas entre sí, y debido a las diferencias observadas entre los parentales para estas covariables, se justifican los signos de los efectos aditivos ya explicados.

En el LG12 se han detectado hasta 26 QTLs entre las posiciones 6,0 y 15,7 cM, donde se localizan QTLs relacionados con todos los tipos de covariables. Así, los QTLs de producción de biomasa (BIOM5PL), producción de paja (PPAJA) y peso de mil semillas (P1000), situados todos ellos en la posición 13,71 cM, ligados al marcador MF153\_CAA\_192, se colocan con todos los QTLs relacionados con la fenología, con los QTLs relacionados con longitud total y a primera vaina, y con los QTLs del número de ramas principales (RAMAS), número de flores por pedúnculo (FLOR\_PEDU), supervivencias en campo (en los ambientes PI08 y ZI07), daños generales por helada (T12DAGE y T15DAGE), rendimiento en el ambiente ZI07 (REN\_ZI07) y con un QTL relacionado con el eje de interacción IPCA1.

TABLA 64: Coeficientes de correlación de Pearson entre distintas covariables genotípicas.

COVARIABLES	INIFLO	MAD1VAI
REN_TOTAL	-0,41 *	-0,30 *
LON_PLA	0,68 *	0,66 *
LON1VAI_PLA	0,88 *	0,78 *
BIOM5PL	0,56 *	0,63 *
PPAJA_5	0,71 *	0,76 *
PSEM_5	-0,66 *	-0,59 *
RAMAS	0,60 *	0,51 *
P1000	-0,38 *	-0,30 *
TOLHEL	0,45 *	0,45 *

INIFLO: inicio de floración, MAD1VAI: maduración a primera vaina, REN\_TOTAL: rendimiento medio obtenido, LON\_PLA: longitud total de la planta, LON1VAI: longitud a primera vaina, PPAJA\_5: peso de la paja producida por planta, PSEM\_5: peso de la semilla producida por planta, RAMAS: número de ramas principales, P1000: peso de mil semillas, TOLHEL: tolerancia a las heladas, \* significativo.

En función de esto, pudiera ser que en este punto del LG12, ligado al marcador MF153\_CAA\_192, hubiera un único QTL cuya expresión se vería reflejada en todas estas covariables mencionadas en el párrafo anterior. Así, según se propuso la relación de que cuanto más temprana es una planta menos altura a primera vaina tiene, podemos continuar diciendo que esto se traduce en menor producción de biomasa y menor producción de paja. Si la planta necesita desarrollar menos hojas para comenzar a florecer, se va a traducir en una menor altura, menor producción de paja y biomasa. Asimismo, los coeficientes de correlación de Pearson obtenidos entre el inicio de la

## *Resultados y Discusión*

floración y longitudes, producción de biomasa y producción de paja, apoyan esta propuesta con valores significativamente altos (Tabla 64).

Continuando con el LG12, entre las posiciones 7,0 y 10 cM, se localizan hasta nueve QTLs, ligados al marcador SSR212-1, entre ellos los QTLs relacionados con la producción de semilla por planta (PSEM\_5) y el índice de cosecha por planta (INDCOS5PL), junto con otros cuatro QTLs de rendimiento en campo (REN\_TOTAL, REN\_PRI, REN\_ZP06 y ZP08) y dos QTLs de supervivencia en campo (PSUP2\_SEM) en los ambientes de primavera de la campaña 2007/08 (ZP08 y PP08).

Con estos resultados, en esta región del LG12 está relacionada la producción de semilla por planta, lo que se traduce en último término en rendimientos en campo. Todos los QTLs implicados, además tienen efectos aditivos positivos, siendo todos aportados por el parental Precoz, el más productivo de los dos como se ha visto. En cuanto a las supervivencias en campo, que se colocan también en esta región, ambas son de ambientes de primavera en la campaña 2007/08, curiosamente la campaña más productiva de todas, con rendimientos de primavera que llegaron a superar a los rendimientos de invierno de otras campañas, lo que relaciona un poco más esta región del LG12 con un mayor rendimiento.

Para finalizar con los comentarios de los QTLs del LG12, otra posible explicación sería que se tratara de un único QTL con influencia en casi todas las covariables evaluadas y comentadas, ya que a pesar de haber QTLs ligados a marcadores distintos, aunque adyacentes, se han localizado en una región y grupo de ligamiento que no está muy saturado de marcadores y la densidad de marcadores es menor que la distancia media entre marcadores del mapa genético construido.

Según estos resultados, esta región jugaría un papel importante en la tolerancia a temperaturas de helada, influyendo a su vez en la supervivencia en campo y ésta a su vez en el rendimiento, ya que en este intervalo se han detectado grupos de QTLs para cada uno de estos tres tipos de caracteres estudiados, así como caracteres relacionados con la fenología y morfología.

El resultado final del rendimiento en semilla es a menudo descrito como el producto de sus componentes, con influencia variable según autores. Así, en lenteja, Tikka y col. (1997) observaron que el rendimiento era una función de la altura de la planta, el número de vainas por planta y el número de semillas por vaina. Para Çiftçi y col. (1998), también en lenteja, la biomasa, el índice de cosecha, el número de semillas por planta, el número de vainas por planta, el número de ramas principales y laterales, y el número de semillas por vaina son los componentes que determinan la cantidad de semilla producida.

Los caracteres considerados como componentes del rendimiento más relacionados en las publicaciones (Murari y col. 1984, Luthra y Sharma 1990, Kumar y col. 1995, Nares y col. 2009, Tyagi y col. 2011), han sido principalmente, la producción de semilla por planta, el índice de cosecha, la producción de biomasa, el número de ramas principales y la longitud de la planta. Otros caracteres, han sido el peso de mil semillas, la altura a primera vaina y los días a floración.

## *Resultados y Discusión*



# **CONCLUSIONES**



## **5.- CONCLUSIONES**

La principal aportación de la presente tesis puede resumirse en que se ha definido el interés, respecto al incremento de los rendimientos en lenteja y bajo los condicionantes castellanos y leoneses, tanto del cambio agronómico en la consideración de siembras otoñales, como de la mejora genética orientada a la generación de nuevos cultivares de lenteja adaptados a la misma. Asimismo, se han definido los caracteres principalmente involucrados en la expresión del rendimiento y se ha contribuido a la detección de QTLs relacionados con ellos, como una herramienta de apoyo a las futuras tareas de mejora.

De forma un poco más específica, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1.- La realización de siembra otoño-invernal utilizando líneas adaptadas a la misma, se ha mostrado como una estrategia potencialmente eficaz en lo que a mejora de la rentabilidad del cultivo de la lenteja en Castilla y León se refiere, pudiendo suponer su concepción una duplicación de los rendimientos que en la actualidad se obtienen realizando siembra primaveral con las mejores variedades comerciales disponibles.
- 2.- Dentro de la componente aditiva ambiental en los análisis del rendimiento, la mayor influencia se ha definido por el cambio en la fecha de siembra, detectándose para todas las combinaciones localidad x campaña de cultivo evaluadas los mayores rendimientos siempre vinculados a la siembra invernal frente a la primaveral.
- 3.- Se ha detectado una importante interacción genotipo x ambiente en la expresión del rendimiento, siendo la componente vinculada con el comportamiento diferencial de los distintos genotipos dentro de los ambientes de siembra invernal la que ha presentado mayor influencia en dicha interacción, seguida del comportamiento diferencial motivado por el cambio en la fecha de siembra.

- 4.- Las variables ambientales que han presentado mayor influencia directa en la componente de la interacción vinculada al cambio de fecha de siembra, se han relacionado con la intensidad y rigor de las heladas durante el desarrollo vegetativo, siendo el número de días de helada por debajo de  $-6^{\circ}\text{C}$  durante este periodo desarrollo vegetativo la variable concreta que mejor parece explicar los comportamientos diferenciales detectados, mientras que la temperatura mínima de mínimas durante la maduración se ha mostrado como la variable ambiental con mayor influencia directa en comportamientos diferenciales entre combinaciones localidad x campaña.
- 5.- Otras variables ambientales con influencia en la interacción y causantes de comportamientos diferenciales en la expresión del rendimiento han sido los días de helada por debajo de  $-3^{\circ}\text{C}$  durante la floración, la precipitación efectiva en tres periodos distintos (desarrollo vegetativo, floración y maduración) y la radiación neta durante el periodo de maduración.
- 6.- La tolerancia a las heladas ha sido la covariable genotípica que mayor peso específico ha mostrado en la interacción genotipo por ambiente para rendimiento, si bien ha influido exclusivamente en los comportamientos diferenciales motivados por el cambio en la fecha de siembra.
- 7.- Como contribución a la definición del ideotipo de lenteja adecuado, el modelo para covariables genotípicas involucradas en la expresión de la componente aditiva del rendimiento ha incluido con signo de relación positivo a los caracteres altura de la planta, biomasa y tolerancia a las heladas, y con signo de relación negativo a la altura de la primera vaina, la paja producida, la fecha de inicio de floración y la duración del periodo de maduración.
- 8.- En cuanto al ideotipo adecuado para siembra invernal, las covariables genotípicas detectadas involucradas en la adaptación al cambio en la fecha de siembra definen relación positiva de nuevo con la tolerancia genética a las heladas y la altura de la planta, así como con la capacidad de ramificación.

## *Conclusiones*

- 9.- En función de la dureza invernal esperada del ambiente concreto objetivo, el ideotipo para inviernos más duros define relación negativa con los periodos de floración y maduración de la primera vaina, y positiva con la expresión del rendimiento unitario por planta.
- 10.- El ideotipo conjunto mostrado en las conclusiones anteriores debe ser matizado en zonas caracterizadas por riesgo de heladas tardías, en las que una excesiva precocidad en floración puede revertir en pérdida de rendimiento.
- 11.- Se ha obtenido un mapa genético intraespecífico de lenteja formado por 13 grupos de ligamiento, con una longitud de 577,5 cM y que contiene 232 marcadores, de los cuales 153 son AFLPs, 44 son MFLPs, 11 son ISSRs, 23 son SSRs y uno es de tipo morfológico, el color del cotiledón (*Yc*), con una distancia media entre loci de 2,5 cM.
- 12.- Referente a detección de QTLs, se han detectado un total de 60, ocho relacionados con el rendimiento *per se*, situados en los grupos de ligamiento 6, 8 y 12; ocho relacionados con la supervivencia en campo, en los grupos de ligamiento 3, 6, 8 y 12; 22 relacionados con tolerancia a heladas y supervivencia a las mismas evaluadas en cámara de ambiente controlado; siete relacionados con la precocidad de floración y duración de periodos fenológicos, cinco en el grupo de ligamiento 12, y dos en el grupo de ligamiento 3; nueve QTLs vinculados a caracteres morfológicos como la longitud total de la planta, longitud a primera vaina, número de flores por pedúnculo, número de ramas principales y tamaño del foliolo, situados en los grupos de ligamiento 3, 6, 8, 11 y 12; y seis para caracteres relacionados con componentes del rendimiento, cinco en el grupo de ligamiento 12 para la biomasa, peso de mil semillas, índice de cosecha, peso de la paja y peso de la semilla producida por planta y uno QTL más para el peso de mil semillas en el grupo de ligamiento seis.
- 13.- En el grupo de ligamiento 12 se han localizado 22 de los 60 QTLs detectados, localizándose aparentemente de forma muy próxima gran parte de los QTLs vinculados al rendimiento, a la supervivencia en campo y cámara de ambiente

## *Conclusiones*

controlado, a la fenología de la floración y maduración, y a la morfología de la planta, resultando esta una zona específica de interés para estudios futuros.

# **BIBLIOGRAFÍA**





## 5. - BIBLIOGRAFÍA

- Abbas S, Ladizinsky G, Weeden NF (1991) Variation in some cultural and physiological characters and host/pathogen interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, and inheritance of resistance to lentil wilt in Syria. PhD thesis, Faculty of Agricultura, University of Aleppo, Aleppo, Syria. Citado en: Sharma B (2009) Genetics of economics traits. En: Erskine W, Muehlbauer FJ, Sarker A, Sharma B (2009) The Lentil: Botany, Production and Uses. CABI Press, Wallingford, UK. pp 76-101.
- Abdipur M, Vaezi B, Bavei V, Heidarpur NA (2011) Evaluation of morpho-physiological selection indices to improve of drought tolerant lentil genotypes (*Lens culinaris* Medik.) under rainfed condition. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 11: 275 - 281.
- Acevedo E, Ceccarelli S (1989) Role of the physiologist breeder in a breeding program for drought resistance conditions. En: Baker FWG (ed) Drought Resistance in Cereals. CAB International, Wallindorf (UK). pp: 117-139.
- Alcalde J, Wheeler T, Summerfield R, Morero A. (1999). Quantitative effects of the genes *LF*, *SN*, *E*, and *HR* on time to flowering in pea (*Pisum sativum* L.). Journal of Experimental Botany, 50: 1691-1700.
- Ali A, Johnson DL (2000) Heritability estimates for winter hardiness in lentil under natural and controlled conditions. Plant Breeding, 119: 283-285.
- Ali A, Johnson DL, Stushnoff C (1999) Screening lentil (*Lens culinaris* Medik.) for cold hardiness under controlled conditions. Journal of Agricultural Science, 133: 313-319.
- Allard RW (1999) Principles of Plant Breeding. John Willey & Sons, New York. 254 pp.
- Alonso FJ, Cristóbal MD (1996) La lenteja. En: Franco F, Ramos A (eds) El cultivo de leguminosas grano en Castilla y León. Consejería de Agricultura. Junta de Castilla y León. 234 pp.
- Altaf M, Venkateshwar M, Srijana M, Reddy G (2007) An economic approach for L-(+) lactic acid fermentation by *Lactobacillus amylophilus* GV6 using inexpensive carbon and nitrogen sources. Journal of Applied Microbiology, 103: 372-380.

- Amanullah and Hatam M (2000) Grain yield potential of lentils germplasm. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3: 1553-1555.
- Anuario de Estadística Agraria del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (<http://www.magrama.es>)
- Aparicio-Tejo PM, Arrese-Igor C, Becana M (1993) Fijación de nitrógeno. En: Azcón-Bieto J and Talón M (eds) *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Interamericana-McGraw-Hill, Madrid. pp 193-213
- Arriaza AJ, Fernández F, López MA, Muñoz M, Pérez S, Sánchez A (2008) *Estadística básica con R y R-Commander*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz, 160 pp.
- Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9: 208- 218.
- Auld DL, Ditterline RL, Murray GA y Swensen JB (1983) Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. *Crop Science*, 23: 85-88.
- Austin RB (1993) Augmenting yield-based selection. En: Hayward MD, Bosemark NO, Romagosa I. (eds) *Plant Breeding: Principles and Prospects.. CIHEAM, Chapman & Hall*, pp. 391-405.
- Aydin H, Buluta Y, Yerlikaya C (2008) Removal of copper (II) from aqueous solution by adsorption onto low-cost adsorbents. *Journal of Environmental Management*, 87: 37-45.
- Balter M (2007) Seeking Agriculture's Ancient Roots. *Science*, 316: 1830-1835.
- Baker RJ (1988) Test for cross-over genotype- environmental interactions. *Canadian Journal of Plant Science*, 68: 405-410.
- Barrios A, Martín A, García A, Rodríguez MJ, Caminero C (2006) Estudios preliminares a cerca de la tolerancia de la genética a heladas en lenteja (*Lens culinaris* Medik). En: De los Mozos Pascual M, Jiménez Alvéar MJ, Rodríguez Conde MF, Sánchez Vioque R (eds) *Nuevos retos y oportunidades de las leguminosas en el sector agroalimentario español (segundas Jornadas de la Asociación Española de Leguminosas)*, Cuenca, 25-27 de abril de 2006. Consejería de Agricultura de Castilla-La Mancha, Toledo, España, 464 pp.
- Barrios A, Martín A, Ramos S, Rotter B, Horres R, Plötner A, Kretzdorn N, Caminero C, Pérez de la Vega M, Winter P (2010) A fast track to genes underlying frost-tolerance QTL in lentil: Bulked-Extremes SuperTag Digital Gene Expression (BE-STDGE) Profiling. *Plant and Animal Genome XVIII. The International Conference on the Status of Plant and Animal*

## *Bibliografía*

- Genome Research, Final Program and Abstracts Guide. P-086. January 9-13, 2010. San Diego, California, USA.
- Barulina H (1930) Lentils of the USSR and other countries. Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding, 40: 265-304. USSR [en ruso con el sumario en inglés]. En: Pérez de la Vega M, Torres AM, Cubero JI, Kole C (eds) Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes. Science Publishers,. 448 pp.
- Barzen E, Mechelke W, Ritter E, Schulte-Kappert E, Salamini F (1995). An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RFLP loci. Theoretical and Applied Genetics, 90: 189-193.
- Becker J, Heum M (1995) Mapping of digested and undigested random amplified microsatellite polymorphisms in barley. Genome, 38: 991-998.
- Bengoechea A, Casta P, Sombrero A (2006) Encuesta a no productores de leguminosas en Castilla y León. En: De los Mozos Pascual M, Giménez Alvear MJ, Rodríguez Conde MF, Sánchez Vioque R (coord.) Nuevos retos y oportunidades de las leguminosas en el sector agroalimentario español: 2as Jornadas de la Asociación Española de Leguminosas, Cuenca, 25-27 de abril de 2006, pp 67-71.
- Biçer BT, Sakar D (2008) Heritability and path analysis of some economical characteristics in lentil. Journal Central European Agriculture, 9: 191-196.
- Biçer BT, Sakar D (2010) Heritability of yield and its components in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 16: 30-35.
- Boersma JG, Pallotta M, Li C, Buirchell BJ, Sivasithamparam K, Yang H (2005) Construction of a genetic linkage map using MFLP and Identification of molecular markers linked to domestication genes in narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius* L.). Cellular & molecular Biology Letters. 10: 331-344.
- Boletines de información agraria de la Junta de Castilla y León (<http://www.jcyl.es>).
- Boye J (2008) New uses of Legumes. Actas de la Asociación española de Leguminosas, 3: 52-56.
- Burstin J, Deniot G, Potier J, Weinachter C, Aubert G, Baranger A (2001) Microsatellite polymorphism in *Pisum sativum*. Plant Breeding, 120: 311-317.
- Buxó, R. (1997) Arqueología de las plantas. Ed. Crítica. Barcelona, Spain. 367 pp.

- Caminero C (2002) Adaptación a la siembra invernal y tolerancia al frío en guisante (*Pisum sativum* L.). Tesis doctoral. Ed. Instituto Tecnológico Agrario Castilla y León, Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León. 286 pp.
- Caminero C, Hernández M, Martín A, Barrios A, Ramos S, García CA, Cid MT, Rodríguez MJ, Barriuso B (2006) Checking MFLPs (Microsatellite-anchored Fragment Length Polymorphisms) as a tool for genetic diversity studies in grain-legume species. 3<sup>rd</sup> International Conference on Legume Genomics and Genetics, April 9-13 2006. pp 67
- Caminero C, Martín A, Martínez L, García CA, Rodríguez MJ, Barriuso MB, Laguna R, Ramos A (2004) Fenotipado de lenteja (*Lens culinaris* Medikus) para tolerancia a heladas en cámara de ambiente controlado. Actas de Horticultura 41: 271-274.
- Castroviejo S, Pascual H (1999) Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares Vol. VII (I) Servicio de Publicaciones del CSIC, Madrid. 622 pp.
- Champ MM-J (2002) Non-nutrient bioactive components of pulses. British Journal of Nutrition, 88: 307-319.
- Charles-Edwards DA (1982) Physiological determinants of crop growth. Academic Press. Sidney. Australia. 161 pp.
- Chauham MP, Singh IS (2001) Relationships between seed yield and its component characters in lentil (*Lens culinaris* Medik). Legume Research, 24 (4): 278 - 280.
- Chen C, Miller P, Muehlbauer F, Neill K, Wichman D, McPhee K (2006) Winter pea and lentil response to seeding date and micro- and macro environments. Agronomy Journal, 98: 1655-1663.
- Choumane W, Winter P, Baum M, Kahl G (2004) Conservation of microsatellite flanking sequences in different taxa of Leguminosae. Euphytica, 138: 239-245.
- Çiftçi V, Kulaz H, Geçit HH (1998) An investigation on relationships among yield and yield components and path coefficient analysis in lentil (*Lens culinaris* Medik.). A.Ü.Z.F. Taram Bilimleri Dergisi, 4: 811.
- Collis J (1978) Carbonized seeds from a Roman burial at Lussat (Puy-de-Dôme), France. Antiquity, 52: 238-239.
- Cooper M, Hammer GL (1996) Plant adaptation and crop improvement. IRRI, ICRISAT, CAB International. 630 pp.

## *Bibliografía*

- Cousin R, Messenger A, Vingere A (1985) Breeding for yield in combining peas. p. 115–129. En: Hebblethwaite PD y col. (eds) The pea crop A basis for improvement. Butterworths, London. pp. 115-129.
- Cubero JI (1981) Origin, Taxonomy and Domestication. En: Webb C, Hawtin G (eds) Lentils. Commonwealth Agricultural Research Bureaux. The International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, pp. 15-38.
- Cubero JI (2003) Introducción a la mejora genética vegetal. Ed Mundi-Prensa. 565 pp.
- Cubero JI, Flores F (2003) Métodos estadísticos para el estudio de la estabilidad varietal en los ensayos agrícolas. 2ª Edición. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. 197 pp
- Cubero JI, Pérez de la Vega M, Fratini R. (2009) Origin, Phylogeny, Domestication and Spread. En: Erskine W, Muehlbauer FJ, Sarker A, Sharma B (eds) The Lentil: Botany, Production and Uses. CABI Press, Wallingford, UK, pp. 13-33.
- Cullis AC (1991) Breeding for resistance to physiological stresses. En: Murray DA (ed) Advanced methods in plant breeding and biotechnology. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 340-352.
- Davidson JA, Kimber RBE (2007) Integrated disease management of ascochyta blight in pulse crops. European Journal of Plant Pathology, 119: 99-110.
- Dayachand (2007) Genetic analysis of yield and yield components in lentil (*Lens culinaris* Medik.). PhD. Thesis. CCS University, Meerut, India. Citado en: Mishra SK, Sharma B, Sharma SK (2007) Genetics and cytogenetics of lentil. En: Yadav SS, McNeil DL, Stevenson PC (eds) Lentil: an ancient crop for modern times. pp 187-208.
- Dehghani H, Sabaghpour SH, Sabaghnia N (2008) Genotype × environment interaction for grain yield of some lentil genotypes and relationship among univariate stability statistics. Spanish Journal of Agricultural Research, 6: 385-394.
- Duke JA (1981) Handbook of Legumes of World Economic Importance. Plenum, New York, 345 pp.
- Durán Y, Fratini R, García P, Pérez de la Vega M (2004) An intersubspecific genetic map of *Lens* Theoretical and Applied Genetics, 108: 1265-1273.
- Durán Y, Pérez de la Vega M (2004) Assessment of genetic variation and species relationships in a collection of *Lens* using RAPD and ISSR. Spanish Journal of Agricultural Research 4: 538-544.

- Elwood SR, Phan HTT, Jordan M, Hane J, Torres AM, Ávila CM, Cruz-Izquierdo S, Oliver RP (2008) Construction of a comparative genetic map in faba bean (*Vicia faba* L.); conservation of genome structure with *Lens culinaris*. *BMC Genomics*, 9: 380-391.
- Emami MK (1996) Genetic mapping in lentil (*Lens culinaris* Medik.) PhD Thesis. Indian Agricultural Research Institute. Citado en: Sharma B (2012) Genes for traits of economic importance in lentil. *Grain Legumes*, 57: 15-17.
- Emami MK, Sharma B (2000) Inheritance of black testa color in lentil. *Euphytica*, 115: 43-47.
- Emami MK, Sharma B (1999) Linkage between three morphological markers in lentil. *Plant Breeding*, 118: 579-581.
- Emami MK, Sharma B (1996) Confirmation of digenic inheritance of cotyledon color in lentil (*Lens Culiaris* Medik). *Indian Journal of Genetics & Plant breeding*. 56: 563-568.
- Erskine W (1997) Lessons for breeders from land races of lentil. *Euphytica*, 93: 107-112.
- Erskine W, Akem C (1999) Winter cropping and reaction to cold. Output from 1998 AEP Conference. *Grain Legumes*, 24: 14-15.
- Erskine W, Muehlbauer FJ (1991) Allozyme and morphological variability, outcrossing rate and core collection formation in lentil germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 83: 119-125
- Erskine W, Muehlbauer FJ (1995). Lentil adaptation to highland wintersown environments in West Asia and North Africa. En: Keatinge JDH, Kusmenoglu I. (eds) Autumn-sowing of lentil in the Highlands of West Asia and North Africa. Central Research Institute for Field Crops, Ankara, Turkey (CRIFC), pp. 51-62.
- Erskine W, Muehlbauer FJ, Sarker A, Sharma B (2009) *The Lentil: Botany, Production and Uses*. CABI Press, Wallingford, UK, 498 pp.
- Erskine W, Williams PC, Nakkoul H (1985) Genetic and environmental variation in the seed size, protein, yield, and cooking quality of lentils. *Field Crops Research*, 12: 153-161.
- Erskine W, Myvezi K, Izgin N (1981) Screening a World lentil collection for cold tolerance. *Euphytica*, 43: 97-103.
- Esmail AM, Mohamed AA, Hamdi A, Rabi EM (1994) Analysis of yield variation in lentil (*Lens culinaris* Medik) *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 32: 1083-1087.

## *Bibliografía*

- Èteve G (1985) Breeding for cold tolerance and winter hardiness in pea. En: Hebblethwaite PD, Heath MC, Dawkins TCK (Eds) *The Pea Crop: A Basis for Improvement*. Butterworths, London, UK, pp 131-136.
- Eujayl I, Baum M, Erskine W, Pehu E, Muehlbauer FJ (1997) The use of RAPD markers for lentil genetic mapping and the evaluation of distorted F<sub>2</sub> segregation. *Euphytica*, 96: 405-412.
- Eujayl I, Baum M, Powell W, Erskine W, Pehu E (1998) A genetic linkage map of lentil (*Lens* sp.) based on RAPD and AFLP markers using recombinant inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 83-89.
- Eujayl I, Erskine W, Baum M, Pehu E (1999) Inheritance and linkage analysis of frost injury in lentil. *Crop Science*, 39: 639-642.
- Fagnano M, Carone F, Mori M (1998) Sowing time and density influence on grain legumes behaviour. 3<sup>rd</sup> European Conference on Grain Legumes. Valladolid, Spain. 14-19 November. pp 158.
- FAOSTAT Database Collections (<http://faostat.fao.org/>).
- Ferguson ME, Maxted N, Van Slageren M, Robertson LD (2000) A re-assessment of the taxonomy of *Lens* Mill. (*Leguminosae*, *Papilionideae*, *Vicieae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 133: 41-59.
- Ferreira A, da Silva MF, da Costa e Silva L, Cruz CD (2006) Estimating the effects of population size and type on the accuracy of genetic maps. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 187-192.
- Font Quer, P. (1995). *Plantas medicinales. El Dioscórides renovado*. Editorial Labor. Barcelona. 1033 pp.
- Ford R, Rubeena, Redden RJ, Materne M, Taylor PWJ (2007) Lentil. En: Kole C (ed) *Genome mapping and molecular breeding in plants, Volume 3. Pulses, sugars and tuber crops*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 91-108.
- Fowler DB, Breton G, Limin AE, Mahfoozi S, Sarhan F (2001) Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. *Plant Physiology*, 127: 1676–1681.
- Fowler DB, Gusta LV (1979) Selection for winter hardiness in wheat. I, identification of genotypic variability. *Crop Science*. 19: 769-772.

- Fox PN, Crossa J, Romagosa I (1997) Multi-environment testing and genotype x environment interaction. En: Kempton RA, Fox PN (eds) *Statistical Methods for Plant Variety Evaluation*. Chapman & Hall, London. pp: 117-137.
- Fox PN, Skovmand B, Thompson BK, Braun H, Cormier, R (1990) Yield and adaptation of hexaploid spring triticale. *Euphytica*, 47: 57-64.
- Fratini R, Durán Y, García P, Pérez de la Vega M (2007) Identification of quantitative trait loci (QTL) for plant structure, growth habit and yield in lentil. *Spanish Journal of Agricultural Research* 5: 348-356.
- García de Diego L, Guillamón E, García-Lafuente A, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA (2008) Papel de las leguminosas en una dieta saludable. *Actas de la Asociación Española de Leguminosas*, 3: 31-51.
- Gauch HG (1992) *Statistical analysis of regional yield trials: AMMI analysis of factorial designs*. Elsevier, Netherlands, Amsterdam, 278 pp.
- Gauch, HG (1988) Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics*, 44: 705-715.
- Gauch HG, Zobel RW (1996) AMMI analysis of yield trials. En: Kang M.S. y Gauch H.G. (eds) *Genotype-by-environment Interaction..* CRC Press, pp. 85-122.
- Gauch HG, Zobel RW (1997). Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Science*, 37: 311-322.
- Gill AS, Malhotra RS (1980) Inheritance of flower color and flower number per inflorescence in lentil. *Lens*, 7: 15-19.
- Gollob HF (1968) A statistical model that combines features of factor analysis and analysis of variance techniques. *Psychometrika*, 33:73-115.
- González MR (2001) *Interacción Genotipo x Ambiente en Guisante Proteaginoso (Pisum sativum L.)*. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. pp: 316.
- Grusack MA (2009) Nutricional and Health- Beneficial Quality. En: Erskine W, Muehlbauer FJ, Sarker A, Sharma B (eds) *The Lentil: Botany, Production and Uses*. CABI Press, Wallingford, UK, pp. 368-390.
- Guerrero A (1999) *Cultivos Herbáceos Extensivos*. Ed Mundi-Prensa. 833 pp.



## *Bibliografía*

- Guy C (1999) The influence of temperature extremes on gene expression, genomic structure, and the evolution of induced tolerance in plants. In: Lerner HR (ed), Plants responses to environmental stresses. From phytohormones to genome reorganization. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, pp 497-548.
- Haddad SG, Husein MQ (2001) Nutritive value of lentil and vetch straws as compared with alfalfa hay and wheat straw for replacement ewe lambs. *Small Ruminant Research*, 40: 255-260.
- Hamdi A, Kusmenoglu I, Erskine W (1996) Sources of winter hardiness in wild lentil. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43: 63-67.
- Hamwiah A, Udupa SM, Choumane W, Sarker A, Dreyer F, Jung C, Baum M (2005) A genetic linkage map of *Lens* sp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of Fusarium vascular wilt resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 669-677.
- Hamwiah A, Udupa SM, Sarker A, Jung C, Baum M (2009) Development of new microsatellite markers and their application in the analysis of genetic diversity in lentils. *Breeding Science*, 59: 77-86.
- Hanlan G, Ball RA, Vandenberg A (2006) Canopy growth and biomass partitioning to yield in short-season lentil. *Can. J. Plant Sci.* 86: 109-119.
- Hartl DL, Jones EW (2001) *Genetics: Analysis of genes and genomes* (5<sup>th</sup> Ed.). Sudbury, MA: Jones and Bartlett, Publishers, Inc. 854 pp.
- Havey MJ, Muehlbauer FJ (1989) Linkages between restriction fragment length, isozyme, and morphological markers in lentil. *Theoretical and Applied Genetics*, 77: 395-401.
- Hoque, ME, Mishra RS, Sarker A. (2002) Inheritance and linkage of leaf color and plant pubescence in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Indian Journal. Genetics & Plant Breeding.* 15: 1-8.
- International Board for Plant Genetic Resources, Rome, International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo (1985) *Lentil Descriptors*. IBPGR Secretariat. 19 pp.
- Ismail AM, Mohamed AA, Hamdi A, Rabie EM (1994) Genetic variability and heritability for agronomic traits in segregating populations of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Annals of Agricultural Science*, 32: 1107-1118.
- Jan N, Mahboob-ul-Hussain, Khurshid I. Andrabi KI (2009) Cold resistance in plants: A mystery unresolved. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12 (3), 15 pp.

- Kahraman A, Demirel U, Ozden M, Muehlbauer FJ (2010) Mapping of QTL for leaf area and the association with winter hardiness in fall-sown. *African Journal of Biotechnology*, 9: 8515-8519.
- Kahraman A, Kusmenoglu I, Aydin N, Aydogan A, Erskine W, Muehlbauer FJ (2004a) Genetics of winter hardiness in 10 lentil recombinant inbred line populations. *Crop Science*, 44: 5-12.
- Kahraman A, Kusmenoglu I, Aydin N, Aydogan A, Erskine W, Muehlbauer FJ (2004b) QTL mapping of winter hardiness genes in lentil. *Crop Science*, 44: 13-22.
- Kakde SS, Sharma RN, Khilkre AS, Lambade, BM (2005) Correlation and Path Analysis studies (*Lens culinaris* Medik.). *Journal of Soils and Crops*. 15: 67-71.
- Karadavut U (2009) Path analysis for yield and yield components in lentil (*Lens culinaris* Medik.) *Turkish Journal of Field Crops*, 14: 97 - 104.
- Karimizadeh R, Mohammadi M (2010) AMMI adjustment for rainfed lentil yield trials in Iran. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16: 66-73.
- Ketata HY, Yau SK, Nachit M (1989) Relative consistency performance across environments. international symposium on physiology and breeding of winter cereals for stressed mediterranean environments. Montpellier, France, 3-6 July. pp 391-400.
- Khosravi E, Khodambashi M, Mohammadi Sh (2010) A linkage group of four genes related to morphological traits in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *International Journal of Plant Production*, 4: 303-308.
- Kosambi D (1944) The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics*, 12: 172-175.
- Kramer CY (1956) Extension of multiple range test to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics*, 12: 307-310.
- Kruskal WH, Wallis WA (1952) Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47: 583-621.
- Kumar A, Singh DP, Singh BB (1995) Genetic variability of yield and its components in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian Journal of Pulses Research*, 8: 60-66.
- Kumar Y (2002) Inheritance and linkage of genes for morphological traits in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Ph.D. Thesis, CCS University, Meerut, India. Citado en: Mishra SK, Sharma B,

## *Bibliografía*

- Sharma SK (2007) Genetics and cytogenetics of lentil. En: Yadav SS, McNeil DL, Stevenson PC (eds) Lentil: an ancient crop for modern times. pp 187-208.
- Kumar Y, Mishra SK, Tyagi MC, Singh SP, Sharma B (2005a) Inheritance of genes for three pigmentation traits in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Journal of Genetics and Breeding, 59: 107-112.
- Kumar Y, Mishra SK, Tyagi MC, Sharma B (2004) Detection of two linkage groups in lentil (*Lens Culinaris* Medik). Indian Journal of Genetics. & Plant Breeding, 64: 306-309.
- Kumar Y, Mishra SK, Tyagi MC, Singh SP, Sharma B (2005b) Linkage between genes for leaf colour, plant pubescence, number of leaflet and plant height in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Euphytica, 145: 41-48.
- Kusmenoglu I, Aydin N (1995) The current status of lentil germplasm exploitation for adaptation to winter sowing in the Anatolian Highlands. En: Keatinge JDH y Kusmenoglu I (ed) Autumn-sowing of lentil in the Highlands of West Asia and North Africa. Central Research Institute for Field Crops (CRIFC), Ankara, Turkey, pp: 63-71.
- Ladizinsky G (1979) The genetics of several morphological traits in the lentil. Journal of Heredity, 70: 135-137.
- Ladizinsky G (1997) A new species of *Lens* from south-east Turkey. Botanical Journal of the Linnean Society, 123: 257-260.
- Ladizinsky G, Braun D, Goshen D, Muehlbauer FJ (1983) Evidence for domestication of *Lens nigricans* (M. Bieb.) Godron in S. Europe. Botanical Journal of the Linnean Society, 87: 169-176.
- Ladizinsky G, Abbo S (1996) Genetic diversity in the genus *Lens*. En: Pickergill B, Locks JM (eds). Advances in Legume Systematics, part 8. Legumes of Economic Importance. Royal Botanic Gardens, Kew. 143 pp.
- Ladizinsky G, Braun D, Goshen D, Muehlbauer FJ (1984) The biological species of the genus *Lens*. Botanical Gazette, 145: 253-261.
- Lakhani JP, Holkar S, Mishra R (1986) Genetics of seedling vigor and hard seed lentil. Lens Newsletter, 13: 10-12.
- Lal S, Srivastava RS (1975) Inheritance of flower color in lentils. Journal of Genetics, 35: 29-30.

- Laucou V, Haurogné K, Ellis N, Rameau C (1998). Genetic mapping in pea. 1. RAPD-based genetic linkage map of *Pisum sativum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 905-915.
- Lejeune-Hénaut I, Bourion V, Eteve G, Cunot E, Delhay K, Desmyter C (1999) Floral initiation in field-grown forage peas is delayed to a greater extent by short photoperiods, than in other types of European varieties. *Euphytica*, 109: 201–211.
- Lejeune-Hénaut I, Hanocq E, Béthencourt L, Fontaine V, Delbreil B, Morin J, Petit A, Devaux R, Boilleau M, Stempniak JJ, Thomas M, Lainé AL, Foucher F, Baranger A, Burstin J, Rameau C, Giauffret C (2008) The flowering locus *Hr* colocalizes with a major QTL affecting winter frost tolerance in *Pisum sativum* L. *Theoretical and Applied Genetics*., 116: 1105-1116.
- Levene H (1960) Robust tests for equality of variances. In: Olkin I (Ed.) *Contributions to Probability and Statistics*. Palo Alto, California: Stanford University Press. pp. 278–292.
- Levitt J (1980) Responses of plants to environmental stresses: chilling, freezing and high temperatures stresses. En: Kozlowsky TT (ed) *Physiological Ecology: A Series of Monographs, Texts and Treatises*, Ed 2, Vol 1. Academic Press, New York, pp 23-64
- Lev-Yadun S, Gopher A, Abbo S (2000) The cradle of agriculture. *Science*, 288: 1602-1603.
- Lewitt J (1980) Responses of plants to environmental stresses: chilling, freezing and high temperature stresses. Academic Press New York. Vol. 1. 497 pp.
- Loridon K, McPhee K, Morin J, Dubreuil P, Pilet-Nayel ML, Aubert G, Rameau C, Baranger A, Coyne C, Lejeune-Hénaut I, Burstin J (2005) Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 1022-1031.
- Loss SP, Siddique KHM (1994) Morphological and physiological traits associated with wheat yield increases in Mediterranean environments. *Advances in Agronomy*, 52: 229-275.
- Luthra SK, Sharma PC (1990) Correlation and path analysis in lentils. *Lens Newsletter* 17: 5-8.
- Mahfoozi S, Limin AE, Fowler DB (2001) Influence of vernalization and photoperiod responses on cold hardiness in winter cereals. *Crop Science*, 41: 1006-1011.
- Malhotra RS, Singh KB (1990) The inheritance of cold tolerance in chickpea. *Journal of Genetic Breeding*. 44: 227–230.

## *Bibliografía*

- Malosetti M, Voltas J, Romagosa I, Ullrich SE, van Eeuwijk FA (2004) Mixed models including environmental variables for studying QTL by environment interaction. *Euphytica*, 137: 139-145.
- Mandel J (1971) A new analysis of variance model for non additive data. *Technometrics*, 13: 1-18.
- Maqbool A, Shafiq S, Lake L (2010) Radiant frost tolerance in pulse crops - a review. *Euphytica*, 172: 1-12
- Markarian D, Andersen RL (1966) The inheritance of winterhardiness in *Pisum* I. *Euphytica*, 15:102–110.
- Materne M, Siddique KHM (2009) Agroecology and crop adaptation. En: Erskine W, Muehlbauer F, Sarker A, Sharma B (eds) *Lentil botany, production and uses*. ICARDA. CAB International, pp 47-63.
- Mathers JC (2002) Pulses and carcinogenesis: potential for the prevention of colon, breast and others cancers. *British Journal of Nutrition*, 88: 273-279.
- Mauri PV, Vergara G, Gallego JF (2003) Variedades del IMIA: Lenteja. En: *Boletín Agrario n° 37*. Instituto Madrileño de Investigación Agraria. Consejería de Economía e Innovación Tecnológica. Comunidad de Madrid, pp. 29.
- May KW, Kozub GC (1993) Genotype x environment interactions for two-row barley grain yield and implications for selection of genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 73: 939-946.
- McNeill J, Barrie FR, Burdet HM, Demoulin V, Hawksworth DL, Marhold K, Nicolson DH, Prado J, Silva PC, Skog JE, Wiersema JH, Turland NJ (2006) International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005. Publ. 2006. Gantner, Ruggell. 568 pp.
- Millán F, Pedroche J, Yust MM, Megías C, Girón-Calle J, Alaiz M, Vioque J (2006) Las leguminosas: fuente potencial de componentes bioactivos. De los Mozos Pascual M, Giménez Alvear MJ, Rodríguez Conde MF, Sánchez Vioque R (coord.) *Nuevos retos y oportunidades de las leguminosas en el sector agroalimentario español: 2as jornadas de la Asociación Española de Leguminosas*, Cuenca, 25-27 de abril de 2006, pp. 419-426.
- Mishra SK, Sharma B, Sharma SK (2007) Genetics and cytogenetics of lentil. En: Yadav SS, McNeil DL, Stevenson PC (eds) *Lentil: an ancient crop for modern times*. pp 187-208.

- Mishra SK (2004) Final technical report on development of comprehensive genetic linkage studies in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Submitted to NATP (ICAR), Krishi Bhavan, New Delhi, India. Citado en: Mishra SK, Sharma B, Sharma SK (2007) Genetics and cytogenetics of lentil. En: Yadav SS, McNeil DL, Stevenson PC (eds.) Lentil: an ancient crop for modern times. pp 187-208.
- Muehlbauer FJ (2004) A molecular marker map of lentil genome and location of quantitative trait loci for tolerance to winter injury. Book of abstracts 5<sup>th</sup> European Conference on Grain Legumes, 7-11 June, Dijon (France), pp 143-146.
- Muehlbauer FJ, Cho S, Sarker A, McPhee KE, Coyne CJ, Rajesh PN, Ford R (2006) Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica*, 147: 149-165.
- Muehlbauer FJ, Kahraman A, Kusmenoglu I, Aydin N, Aydogan A, Erskine W (2004) A molecular marker map of the lentil genome and location of quantitative trait loci for tolerance to winter injury. En: 'Legumes for the benefit of agriculture, nutrition and the environment: their genomics, their products, and their environment', Conference handbook of the 5<sup>th</sup> European conference on grain legumes and 2<sup>nd</sup> international conference on legume genomics and genetics, 7-11 June, 2004, Dijon, France, pp. 143-146.
- Muehlbauer FJ, McPhee KE (2002) Future of North American lentil production. En: Brouwer JB. Horsham (eds) Proceedings of Lentil Focus. , Victoria, Australia, pp. 8-13.
- Muehlbauer FJ, Tullu A (1997) *Lens culinaris* Medik. In: NewCROP FactSHEET, <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/CropFactSheets/lentil.html>
- Muehlbauer FJ, Weeden NF, Hoffman DL (1989) Inheritance and linkage relationships of morphological and isozyme loci in lentil (*Lens* Miller). *Journal of Heredity*, 80: 298-303.
- Murari K, Pandey SL, Kumar V (1988) Simple correlation and multiple regression studies in lentil. *Legume Research*, 11: 101-102.
- Murcia JL (2009) Arroces, pastas y legumbres: iconos de la dieta mediterránea. *Distribución y consumo*, 105: 31-38.
- Murray GA, Eser D, Gusta LV, Eteve G (1988) Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. En: Summerfield RJ (ed) *World Crops: Cool-Season Food Legumes*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer. pp: 831-843.

## *Bibliografía*

- Murray GA, Swensen JB (1991) Winterhardiness of pea. *Pisum Genetics*, 23: 4-13.
- Muzquiz, M. (1997) Spanish legumes and the Mediterranean diet. *Grain Legumes*, 17: 22-23.
- Nadal S, Moreno MT, Cubero JI (2004) Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca. Ed. Mundi-Prensa. 318 pp.
- Naresh K, Chahota RK, Sood BC (2009) Component analysis for seed yield and yield traits in microsperma × macrosperma derivatives of lentil (*Lens culinaris* Medik.) *Agricultural Science Digest*, 29: 163-168.
- Ney B, Duc G (1997) Potential and problems with winter sowing of food legumes in northern Europe. En: *Problems and Prospects for Winter Sowing of Grain Legumes in Europe*. 3-4 December 1996, Dijon (France). AEP (ed), pp 35-42.
- Ney B, Duthion C, Turc O (1994) Phenological response of pea to water stress during reproductive development. *Crop Science*, 34: 141-146.
- Omvir, Gupta VP (2000) Genotype x environment interaction and heritability for quantitative characters in macrosperma x microsperma derived lines of lentil. *Legume Research*, 23: 201-205.
- Ouellet F (2007) Cold acclimation and freezing tolerance in plants. *Encyclopedia of Life Sciences* doi: 10.1002/9780470015902.a0020093.
- Pandey A, Singh DP, Singh BB (1992) Evaluation of indigenous germplasm for yield and yield components in lentil (*Lens culinaris* Medik.). ND University of Agriculture & Technology, Faizabad, India, *Research Bulletin* 1: 45 pp.
- Pandian A, Ford R, Taylor PWJ (2000) Transferability of Sequence Tagged Microsatellite Site (STMS) primers across four major pulses. *Plant Molecular Biology Reporter* 18: 395a-395h.
- Pazos F (2007) Cultivos no-transgénicos resistentes a herbicidas Una nueva “solución” de la Industria: la tecnología Clearfield. *Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina*. Montevideo, Uruguay. 12 pp (Disponible en: <http://www.chasque.net/rapaluy/Clearfield.html>).
- Pearson K (1896) *Mathematical contributions to the theory of evolution*. III. Regression, heredity and panmixia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 187: 253-318.

- Pérez de la Vega M, Fratini R, Muehlbauer FJ (2011) Lentil. En: Pérez de la Vega M, Torres AM, Cubero JI, Kole C (eds) *Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers,. 448 pp.
- Pérez G, de los Mozos M, Portillo M (2004) Plagas clave de la lenteja en Castilla-La Mancha (España Central): pérdidas de producción e influencia sobre los componentes del rendimiento. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 30: 763-772.
- Phan HTT, Ellwood SR, Ford R, Thomas S, Oliver R (2006) Differences in syntenic complexity between *Medicago truncatula* with *Lens culinaris* and *Lupinus albus*. *Functional Plant Biology*, 33:775-782.
- Phan HTT, Ellwood SR, Hane JK, Ford R, Materne M, Oliver RP (2007) Extensive macrosynteny between *Medicago truncatula* and *Lens culinaris* ssp. *culinaris*. *Theoretical and Applied Genetics*, 114: 549-558.
- Preiss S, Mattered V, Latron F (2005) An approach to funerary rituals in the Roman provinces: plant remains from a Gallo-Roman cemetery at Faulquemont (Moselle, France). *Vegetation History and Archaeobotany*, 14: 362-372.
- Prieur J, Cousin R (1978) Contribution to establishing a technique for selecting for cold resistance in winter peas. *Annales de l'amélioration des Plantes.*, 28: 157-163.
- Pringle H (1998) Neolithic Agriculture: the slow birth of agriculture. *Science*, 282: 1446.
- de la Puente R, García P, Polanco C, Pérez de la Vega M (2013) An improved intersubspecific genetic map in *Lens* including functional markers. *Spanish Journal of Agricultural Research* (en prensa).
- Puhakainen T (2004) *Physiological and Molecular Analyses of Cold Acclimation of Plants*. Doctoral thesis. Department of Biological and Environmental Sciences, Genetics Faculty of Biosciences University of Helsinki Finland, 60 pp.
- Rathi AS, Sindhu JS, Singh VS (2002) Variability, heritability and genetic advance in lentil. *Legume Research* ,25: 113-116.
- Resa S (1994) *Legumbres. Distribución y Consumo Febrero / Marzo*: 107-118.
- Riva EA (1975) 'Precoz', a new lentil cultivar for Argentina. *Lens*, 2: 9-10.



## *Bibliografía*

- Rodríguez M, Rau D, Papa R, Attene G (2007) Genotype by environment interactions in barley (*Hordeum vulgare* L.): different responses of landraces, recombinant inbred lines and varieties to Mediterranean environment. *Euphytica*, 163: 231-247.
- Rodríguez MJ, Duque P, Díez MC, Caminero C, Laguna R, Ramos A (2003) Estudio preliminar de herbicidas de postemergencia en lenteja. En: Actas de la 1ª Jornadas de la Asociación Española de Leguminosas. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, pp. 11-13.
- Rodríguez MJ, Duque P, Díez MC, Caminero C, Laguna R, Ramos A (2004) New post-emergence herbicides in lentil. Legumes for the benefits of agriculture, nutrition and the environment: their genomics, their products and their improvement. 5th European Conference on Grain Legumes, 7 - 11 June 2004, Dijon, France. 393 pp.
- Rodríguez MJ, García A, Caminero C, Barrios A, Hernández A (2012) Presente y futuro de los herbicidas en leguminosas. *Agricultura*, 951: 358-363.
- Rodríguez MJ, Mora R (2001) Análisis de regresión múltiple. En: Rodríguez MJ, Mora R (eds) Estadística informática: casos y ejemplos con el SPSS. Publicaciones de la Universidad de Alicante, pp 109-123.
- Romagosa I, Fox PN (1993). Genotype x environment interaction and adaptation. En: Bosemark NO, Romagosa I (eds) Plant Breeding: Principles and Prospects. Hayward MD. C.I.H.E.A.M; Chapman and Hall, London, pp. 373-390.
- Romagosa I, Voltás J, Blanco R (2001) Diseño de experimentos. Volumen I. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària. Universitat de Lleida, 74 pp.
- Romagosa I, Voltás J, Malosetti M, van Eeuwijk FA (2008) Interacción genotipo por ambiente. En: Ávila Gómez CM, Atienza Peñas SG, Moreno Yangüela MT, Cubero Salmerón JI (eds) La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora vegetal. Junta de Andalucía, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera Consejería de Agricultura y Pesca, Andalucía, Spain, pp. 107-135.
- Roy F, Boye JI, Simpson BK (2010) Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International*, 43: 432-442.
- Rubeena, Ford R, Taylor PWJ (2003) Construction of an intraspecific linkage map of lentil (*Lens culinaris* ssp. *culinaris*). *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 910-916.

- Rubiales D, Fernández-Aparicio M, Rodríguez MJ (2008) First report of crenate broomrape (*Orobanche crenata*) on lentil (*Lens culinaris*) and common vetch (*Vicia sativa*) in Salamanca Province, Spain. *Plant Disease*, 92: 1368-1368.
- Ruelland E, Vaultier M-N, Zachowski A, Hurry V (2009) Cold signalling and cold acclimation in plants. *Advances in Botanical Research*, 49: 36-150.
- Saha GC (2010) Mapping of foliar disease resistance genes and genes for agro-morphological traits in *Lens culinaris* Medik. Ph.D Thesis. Washington State University, 109 pp.
- Saha G, Sarker A, Chen W, Vandemark GJ, Muehlbauer FJ (2010a) Identification of markers associated with genes for rust resistance in *Lens culinaris* Medik. *Euphytica*, 175: 261-265.
- Saha G, Sarker A, Chen W, Vandemark GJ, Muehlbauer FJ (2010b) Inheritance and linkage map positions of genes conferring resistance to stemphylium blight in lentil. *Crop Science*, 50:1831-1839.
- Sakar D, Durutan N, Meyveci K (1988) Factors which limit the productivity of cool season food legumes in Turkey. In: Summerfield RJ (ed) *World Crops: Cool-Season Food Legumes*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer. pp 137-145.
- Salehi M, Haghazari A, Shekari F, Faramarzi A (2008) The study of seed yield and seed yield components of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under normal and drought stress conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 758-762.
- Sandhu JS, Singh S (2007) History and Origin. In: Yadav SS, McNeil DL, Stevenson PC (eds) *Lentil: an ancient crop for modern times*. Springer, pp 1-9.
- Sarker A, Aydogan A, Chandra S, Kharrat M, Sabaghpour S (2009) Genetic enhancement for yield and yield stability. En: Erskine W, Muehlbauer FJ, Sarker A, Sharma B (eds) *Lentil botany, production and uses*. ICARDA. CAB International, pp 102-120.
- Sarker A, Aydogan A, Sabaghpour SH, Kusmenoglu I, Sakr W, Erskine W, Muehlbauer FJ (2004) Lentil Improvement for the benefit of Highland farmers. 4<sup>th</sup> International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September – 1 October 2004.
- Sarker A, Erskine W, Sharma B, Tyagi MC (1999) Inheritance and linkage relationships of days to flower and morphological loci in lentil (*Lens culinaris* Medikus ssp. *culinaris*). *Journal of Heredity*, 90: 270-275.

## *Bibliografía*

- Sarwar DM, Khatoon F, Gowda CLL (1984) Comparative correlation and path analysis in local and exotic germplasm in lentil. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 44: 201-205.
- Saxena MC, Hawtin GC (1981) Morphology and Growth Patterns. En: Webb C, Hawtin G (eds) *Lentils*. Commonwealth Agricultural Research Bureaux. The International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, pp. 39-52.
- Semagn K, Bjornstad A, Ndjiondjop MN (2006) Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. *African Journal of Biotechnology*, 5 (25): 2569-2587.
- Shapiro SS, Wilk MB (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52: 591-611.
- Sharma B (2008) Present status of genetic research in lentil (*Lens culinaris*). Grain Legumes Technology Transfer Platform (GL-TTP) Workshop, 2, Novi Sad (Serbia), 27-28 Nov.
- Sharma B, Emami MK (2002) Discovery of a new gene causing dark green cotyledon and path way of pigment synthesis in Lentil (*Lens Culinaris* Medik). *Euphytica*, 24: 349-353.
- Sharma SK, Knox MR, Ellis THN (1996) AFLP analysis of the diversity and phylogeny of *Lens* and its comparison with RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 751-758.
- Sharma P, Nidhi Sharma N, Deswal R (2005) The molecular biology of the low-temperature response in plants. *BioEssays*, 27: 1048-1059.
- Siddique KHM, Loss SP, Pritchard DL, Regan KL, Tennant D, Jettner RL, Wilkinson D (1998) Adaptation of lentil (*Lens culinaris* Medik.) to Mediterranean-type environments: effect of time of sowing on growth, yield, and water use. *Australian Journal of Agricultural Research*, 49: 613-626.
- Siddique KS, Cavicchioli R (2006) Cold adapted enzymes. *Annual Review of Biochemistry* 75, 403-433.
- Sigh U (1999) Cooking quality of pulses. *Journal of food Science and Technology-Mysore*, 36: 1-14.
- Slafer GA (2003) Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of Applied. Biology*, 142: 117-128.
- Sonnante G, Hammer K, Pignone D (2009) From the cradle of agriculture a handful of lentils: History of domestication. *Rendiconti Lincei*, 20: 21 - 37.

- Spaeth SC, Muehlbauer FJ (1991) Registration of three germplasms of winterhardy lentil. *Crop Science*, 31: 1395.
- Stanfield WD (1971) *Genética. Teoría y 440 problemas resueltos*. Segunda ed. Serie Schaum, McGraw-Hill, México. 405 pp.
- Steel RGB, Torrie JH (1981) *Principles and procedures of statistics, Second Edition*. McGraw-Hill. 633 pp.
- Steponkus P (1978) Cold hardiness and freezing injury of agronomic crops. *Avd. Agronomy*, 30: 51-97.
- Steponkus PL (1984) Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Reviews of Plant Physiology*, 35: 543-584.
- Stoddard FL, Balko C, Erskine W, Khan HR, Link W, Sarker A (2006) Screening techniques and sources of resistance to abiotic stresses in cool-season food legumes. *Euphytica*, 147: 167-186.
- Sulc RM, Albrecht KA, Duck SH (1991) Leakage of intracellular substance as an indicator of freezing injury in alfalfa. *Crop Science*, 31: 430-435.
- Summerfield RJ, Roberts RJ, Erskine W, Ellis RH (1985) Effects of Temperature and Photoperiod on Flowering in Lentils (*Lens culinaris* Medik.). *Annals of Botany*, 56: 659-671.
- Swensen, J.B. 1980. Development of freezing tolerance and changes in tissue moisture during hardening of *Pisum sativum* L. and *Pisum sativum* subsp. *arvense* L. MSc thesis, University of Idaho, USA. 108 pp.
- Tadmor Y, Zamir D, Ladizinsky G (1987) Genetic mapping of an ancient translocation in the genus *Lens*. *Theoretical and Applied and Genetics*, 73: 883-892.
- Tahir M, Muehlbauer FJ (1995). Association of quantitative trait loci with isozyme markers in lentil (*Lens culinaris* L.). *Journal of Genetics and Breeding*, 49: 145-150.
- Tahir M, Muehlbauer FJ, Spaeth SC (1994) Association of isozyme markers with quantitative trait loci in random single seed descent derived lines of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Euphytica*, 75: 111-119.
- Tahir M, Simon CJ, Muehlbauer FJ (1993) Gene map of lentil: a review. *Lens Newsletter*, 20: 3-10.

## *Bibliografía*

- Tanksley SD, Ganai MW, Price JP, de Vicente MC, Bonierbale MW, Broum P, Fulton TM, Giovannoni H, Grandillo S, Martin GB, Messenguer R, Miller JC, Miller L, Paterson AH, Pineda O, Röder M, Wing RA, Wu W, Young ND (1992) High-density molecular linkage map of tomato and potato genome. *Genetics*, 132: 1141-1160.
- Tanyolac B, Ozatay S, Kahraman K, Muehlbauer FJ (2010) Linkage mapping of lentil (*Lens culinaris* L.) genome using recombinant inbred lines revealed by AFLP, ISSR, RAPD and some morphologic markers. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 2: 001-006.
- Taylor P, Lindbeck K, Chen W, Ford R (2007) Lentil diseases. En: Yadav S, McNeil D, Stevenson P (eds) *Lentil: an Ancient Crop for Modern Times*. Springer, pp. 291-313.
- Teutonico RA, Yandell B, Satagopan JM, Ferreira MF, Palta JP, Osborn TC (1995) Genetic analysis and mapping of genes controlling freezing tolerance in oilseed *Brassica*. *Molecular Breeding*, 1: 329-339
- Thavarajah P, Thavarajah D, Vandenberg A (2009) Low phytic acid lentils (*Lens culinaris*): A potential solution for increased micronutrient bioavailability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 9044-9049.
- Thomé OW (1885) *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz in Wort und Bild für Schule und Haus*. Gera-Untermhaus. 699 pp.
- Tikka SBS, Asama BN, Gupta VK (1997) Interrelationships of quantitative characters with seed yield in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian Journal of Heredity*, 9: 16.
- Tukey JW (1953) The problem of multiple comparisons. Manuscrito sin publicar. Citado en: SAS/STAT® User's guide, version 6, fourth edition, volume 2, Cary, NC: SAS Institute INC., 1989. 846 pp.
- Tullu A, Tar'an B, Warkentin T, Vandenberg A (2008) Construction of an intraspecific linkage map and QTL analysis for earliness and plant height in lentil (*Lens culinaris* Medikus) *Crop Science*, 48: 2254-2264.
- Tyagi SD, Khan MH (2011) Correlation, path-coefficient and genetic diversity in lentil (*Lens culinaris* Medik.) under rainfed conditions. *International Research Journal of Plant Science*, 2: 191-200.

- Urbano G, Porres JM, Frías J, Vidal-Valverde C (2007) Nutricional Value. En: Yadav S, McNeil D, Stevenson P (eds.) Lentil: an Ancient Crop for Modern Times, Springer. pp. 47-93.
- Vaillancourt RE, Slinkard AE (1993) Linkage of morphological and isozyme loci in lentil, *Lens culinaris* L. Canadian Journal of Plant Science, 73: 917-926.
- Vandenberg A, Slinkard AE (1990). Genetics of seed coat color and Pattern in lentil. Journal of Heredity, 81: 484-488.
- Vandenberg A, Slinkard AE (1989) Inheritance of four new quantitative genes in Lentil. Journal of Heredity, 80: 320-322.
- Van Eeuwijk, FA Denis JB, Kang MS (1995) Incorporating additional information of genotypes and environments in models for two-way genotype by environment tables. En: Kang MS, Gauch HG (ed) Genotype by environment interaction: New perspectives. CRC-Press, Boca Raton. pp 15-49.
- Van Eeuwijk FA, Malosetti M, Yin X, Struik PC, Stam P (2005) Statistical models for genotype by environment data: from conventional ANOVA models to eco-physiological QTL models. Australian Journal of Agricultural Research, 56: 1-12
- Van Ooijen JW (2004) Map QTL® 5.0 software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen. Netherlands.
- Van Ooijen JW (2006) JoinMap®4 Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Plant Research International B.V. and Kyazma B.V. Wageningen, 55 pp.
- Van Oss H, Aron Y, Ladizinsky G (1997) Chloroplast DNA variation and evolution in the genus *Lens*. Theoretical and Applied Genetics, 106: 428-434.
- Vargas M Crossa J, van Eeuwijk FA, Ramírez ME, Sayre K (1999) Using AMMI, factorial regression, and partial least squares regression models for interpreting genotype x environment interaction. Crop Science, 39: 955-967.
- Voltas J, van Eeuwijk FA, Araus JL, Romagosa I (1999b) Integrating statistical and ecophysiological analysis of genotype by environment interaction for grain filling of barley in Mediterranean areas II. Grain growth. Field Crops Research, 62: 75-84.
- Voltas J, van Eeuwijk F, Igartua E, Garcia del Moral LF, Molina-Cano JL, Romagosa I (2002) Genotype by environment interaction and adaptation in barley breeding: basic concepts and

## *Bibliografía*

methods of analysis. En: G.A. Slafer, J.L. Molina-Cano, R. Savin, J.L. Araus and I. Romagosa (eds.), *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality*. Haworth Press. Binghamton, New York, pp 205-241.

Voltas J, van Eeuwijk FA, Sombrero A, Lafarga A, Igartua E, Romagosa I (1999a) Integrating statistical and ecophysiological analysis of genotype by environment interaction for grain filling of barley in Mediterranean areas I. Individual grain weight. *Field Crops Research*, 62: 63-74.

Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.

Weller J, Hecht V, Rajandran V (2012) Genetic control of flowering in lentil (*Lens culinaris*). University of Tasmania, Australia, 24/07/2012 (<http://www.utas.edu.au/plant-science/research/developmental-genetics/flowering-and-photoperiodism/genetic-control-of-flowering-in-lentil-lens-culinaris-doctorate>).

Weeden NF, Muehlbauer FJ, Ladizinsky G (1992) Extensive conservation of linkage relationships between pea and lentil genetic maps. *Journal of Heredity*, 83:123-129.

Whitehead SJ, Summerfield RJ, Muehlbauer FJ, Coyne CJ, Ellis RH, Wheeler TR (2000) Crop improvement and the accumulation and partitioning of biomass and nitrogen in lentil. *Crop Science*, 40: 110-120.

Williams JT, Sanchez AMC, Jackson MT (1974) Studies on lentil and their variation, I. The taxonomy of the species I. *SABRAO Journal*, 6: 133-145.

Wilson VE, Law AG (1972) Natural crossing in *Lens esculenta* Moench. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 87: 142-143.

Winter P, Benko-Iseppon AM, Hüttel B, Ratnaparkhe M, Tullu A, Sonnante G, Pfaff T, Tekeoglu M, Santra D, Sant VJ, Rajesh PN, Kahl G, Muehlbauer FJ (2000). A linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome based on recombinant inbred lines from a *C. arietinum* × *C. reticulatum* cross: localization of resistance genes for Fusarium wilt races 4 and 5. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 1155-116.

- Wooten DR, Livingston DP, Lyerly HJ, Holland JB, Jellen EN, Marshall DS, Murphy J (2009) Quantitative trait loci and epistasis for oat winter hardiness component traits. *Crop Science*, 48: 149-157.
- Yadav S, Phogat DS, Solanki IS, Tomer YS (2003) Characters association and path coefficient analysis in lentil. *Indian Journal of Pulse Research*, 16: 22-24.
- Yadav S, Stevenson P, Rizvi A, Manohar M, Gailing S, Mateljan G (2007) Uses and Consumption. En: Yadav S, McNeil D, Stevenson P (eds) *Lentil: an Ancient Crop for Modern Times*. Springer, pp. 33-46.
- Yan J, Zhu J, He C, Benmoussa M, Wu P (1998) Molecular dissection of developmental behaviour of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*, 150: 1257 - 1265.
- Yang H, Sweetingham MW, Cowling WA, Smith PMC (2001) DNA fingerprinting based on microsatellite-anchored fragment length polymorphisms, and isolation of sequence-specific PCR markers in lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Molecular Breeding*, 7: 203-209.
- Younis N, Hanif M, Sadiq S, Abbas G, Asghar MJ, Haq MA (2008) Estimation of genetic parameters and path analysis in lentil. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 45: 44-48.
- Zaman MW, Mian MAK, Rahman MM (1989) Variability and correlation studies in local germplasm of lentil in Bangladesh. *Lens Newsletter*, 16: 17 - 19.
- Zamir D, Ladizinsky G (1984) Genetics of allozyme variants and linkage groups in lentil. *Euphytica*, 33: 329-336.
- Zavodná M, Kraic J, Paglia G, Gregová E, Morgante M (2000) Differentiation between closely lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars using DNA markers. *Seed Science & Technology*, 28: 217-219.
- Zobel RW, Wright MJ, Gauch HG (1988) Statistical analysis of a yield trial. *Agronomy Journal*, 80: 388-393.
- Zohary D (1972) The wild progenitor and the place of origin of the cultivated lentil, *Lens culinaris*. *Economic Botany*, 26: 326-332.
- Zohary D, Hopf M (1993) Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Africa, Europe and the Nile Valley (2<sup>nd</sup> ed.), Clarendon Press, Oxford. 316 pp.