

UNIVERSIDAD DE GRANADA
19 JUNIO 1997
COMISION DE DOCTORADO

Dpto. Biología Vegetal
Facultad de Ciencias
Universidad de Granada
1997

JUAN A. YANEZ GARCIA



UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha: 23-05-97
ENTRADA NUM. 1655

TESIS DOCTORAL

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL
DESARROLLO APICAL, LENADO DEL
GRANO Y PRODUCTIVIDAD EN
TRITICALE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
Nº Documento 613386972
Nº Copia 216278756

79/67

~~21/102~~

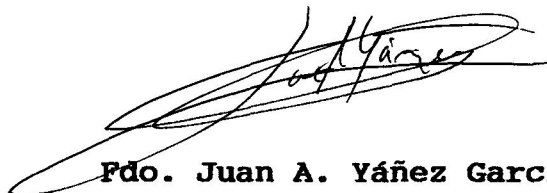
Memoria presentada por el Licenciado

D. Juan Antonio Yáñez García

para aspirar al grado de

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Granada, Mayo de 1997



Fdo. Juan A. Yáñez García

Vº Bº

LOS DIRECTORES DEL TRABAJO



Fdo. José M. Ramos Clavero
Catedrático
Dpto. Biología Vegetal
Facultad de Ciencias
Universidad de Granada.



Fdo. Luis F. García del Moral
Profesor Titular
Dpto. Biología Vegetal
Facultad de Ciencias
Universidad de Granada.

Este trabajo ha sido realizado dentro de las actividades científicas del Grupo de Investigación "Fisiología y Tecnología de Cultivos" de la Universidad de Granada y financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología a través del Proyecto AGF93-0528-CO2-01.

Mi agradecimiento a los Dres. D. José M. Ramos Clavero y D. Luis F. García del Moral Garrido, por su permanente ayuda en la realización de esta Tesis. Su gran capacidad de trabajo y espíritu científico, unido al buen carácter de ambos, ha hecho posible la realización de esta Memoria en un ambiente de trabajo muy agradable e idóneo para una actividad científica.

Mi agradecimiento a mis amigos y compañeros, quienes siempre me han ayudado y apoyado tanto en los trabajos de campo y laboratorio como en mis momentos de cansancio y fatigas.

Mi agradecimiento al CIDA de Granada y Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada sin los cuales hubiera sido imposible la realización de esta Memoria.

A mi familia.

INDICE

Indice

INDICE

	Pag.
1.- OBJETIVOS.	1
2.- INTRODUCCION.	3
2.1.- Características botánicas del triticale.	3
2.2.- Crecimiento y desarrollo del cultivo.	5
2.3.- Principales factores que afectan al crecimiento y desarrollo del cultivo.	9
2.4.- Rendimiento en grano y sus componentes.	14
2.5.- Crecimiento del grano.	19
2.6.- Asurado del grano de triticale.	22
2.7.- Calidad del grano de triticale.	28
3.- MATERIAL Y METODOS.	30
3.1.- Descripción de los ensayos en cámara de cultivo.	30
3.2.- Disección del material vegetal.	32
3.3.- Climatología y localización de los ensayos de campo.	34
3.4.- Diseño estadístico y determinaciones experimentales.	41
3.5.- Estudio estadístico.	44
4.- RESULTADOS.	45
4.1.- Estudio en cámara de ambiente controlado del desarrollo del meristemo apical de 5 genotipos de triticale en función del fotoperiodo y la temperatura.	45
4.1.1.- Experimento 0 (FP largo y T baja).	45
4.1.2.- Experimentos 1 (FP largo y T alta), 2 (FP medio y T alta) y 3 (FP corto y T alta).	46

Indice

	Pag.
4.2.- Estudio en condiciones de campo de la producción de grano y sus componentes en función del genotipo, los tratamientos con desecante, el ambiente y la anualidad.	70
4.2.1.- Cosecha grano y componentes.	70
4.2.2.- Evolución del peso de mil granos desde la antesis hasta la recolección	81
4.2.3.- Evolución de los carbohidratos solubles en los tallos.	91
4.2.3.1.- Transporte de carbohidratos solubles al grano desde antesis a madurez.	96
4.2.4.- Días de actividad fisiológica.	97
5.- DISCUSION.	104
6.- CONCLUSIONES.	117
7.- BIBLIOGRAFIA.	120

1. - OBJETIVOS

Objetivos

1.- OBJETIVOS.

La presente Memoria de Tesis Doctoral se puede considerar como continuación de los estudios que se vienen realizando sobre la fisiología y el rendimiento del triticale, desde hace más de 10 años, por el Grupo de Investigación "Fisiología y Tecnología de Cultivos" en la Provincia de Granada. El objetivo general de esta Memoria consiste en profundizar en el conocimiento del desarrollo del meristemo apical y en el estudio de la fisiología del llenado del grano en el triticale, el cual se caracteriza por su tendencia al asurado. Dentro de este objetivo general, podemos señalar tres objetivos específicos:

1.- Determinar, en cámara de crecimiento con ambiente controlado, la influencia del fotoperíodo y temperatura sobre el crecimiento y diferenciación del meristemo apical en relación con la precocidad en cinco genotipos de triticale, los cuales paralelamente son utilizados en ensayos de campo.

2.- Cuantificar la producción de grano, componentes del rendimiento y parámetros relacionados en los cinco genotipos de triticale, en dos ambientes bien diferenciados en la provincia de Granada (secano y regadío), durante las campañas agrícolas de 1993-94, 1994-95 y 1995-96.

Objetivos

3.- Evaluar los efectos de la sequía sobre el transporte de asimilados para el llenado del grano en los cinco genotipos de triticale, en condiciones naturales y mediante el uso de desecantes químicos una semana después de la fase de antesis.

2 . - INTRODUCCION

Introducción

2.- INTRODUCCION.

2.1.- Características botánicas del triticale.-

El triticale, (*XTriticosecale* Wittmack), pertenece al orden Graminales, familia Graminae, tribu Triticeae, género *Triticosecale*. Habiendo sido obtenido por la duplicación cromosómica del híbrido procedente del cruzamiento de los géneros *Triticum* y *Secale*.

Según su dotación cromosómica los triticales se pueden clasificar en tetraploides, hexaploides, octoploides y decaploides (Müntzing, 1979; Gupta, 1986; Royo, 1992):

Los triticales tetraploides ($2n=4x=28$), se obtienen del cruzamiento entre el triticale hexaploide (AABBRR)x(RR) y el centeno diploide seguido de autofecundaciones sucesivas. La estabilidad cromosómica es buena pero su fertilidad es deficiente, aunque actualmente se están haciendo intentos para su mejora (Lapinski et al., 1994).

Los hexaploides ($2n=6x=42$), son los más extensamente cultivados. Su constitución genómica es AABBRR, proceden de la duplicación cromosómica del híbrido resultante del cruzamiento entre *T. turgidum* (AABB) y *S. cereale* (RR).

Introducción

Los octoploides ($2n=8x=56$). Los obtuvo Müntzing por primera vez en 1948. Su constitución genómica procede del *Triticum aestivum* (AABBDD) y del *Secale cereale* (RR) para originar un genomio AABBDDRR. El uso de este tipo de triticales es muy prometedor para sustituir a las variedades comunes de trigo (Zhao y Li, 1994).

Los decaploides ($2n=10x=70$), con genomio AABBDDRRRR obtenido por Müntzing en 1955. Resultan del cruzamiento entre el triticales octoploide y el centeno diploide. Son citológicamente inestables, con poco vigor y fertilidad.

Los hexaploides son los que tienen mayor importancia, no sólo desde el punto de vista agronómico, sino también por su interés en investigaciones básicas, ya que producen más materia seca que sus parentales (Güedes-Pinto y Bernard, 1983). Además, muestran mayor número de espiguillas por espiga y de granos por espiga que el trigo duro o blando (Rojo y García del Moral, 1986), teniendo mayores niveles de lisina, metionina y, en general, de proteínas que sus parentales trigo y centeno (Hulse y Spurgeon, 1974; Bishnoi y Hughes, 1979).

De acuerdo con su historial de desarrollo, los triticales pueden ser primarios y secundarios.

Los primarios son híbridos obtenidos inmediatamente después de la duplicación de los cromosomas posterior a la hibridación

Introducción

interespecífica. A su vez pueden ser naturales o recombinados.

Los secundarios son híbridos obtenidos a partir del cruzamiento entre triticales primarios; entre éstos y trigos hexaploides. Entre ellos cabe la posibilidad de que haya sustituciones de cromosomas del centeno por otros de trigo harinero, la sustitución cromosómica de mayor trascendencia ha sido la 2D(2R), en la cual el par de cromosomas 2D del trigo hexaploide ha sustituido un par de cromosomas del centeno (Royo, comunicación personal). A esta clase se les denomina "triticales sustituidos", llamándose "triticales completos" los que retienen todo el complemento de cromosomas del genomio del centeno (National Research Council, 1989). Los triticales completos son mejores que los sustituidos para el doble uso. Además, suelen estar más adaptados a suelos ácidos, mientras que los sustituidos lo están a suelos alcalinos (Royo et al., 1993).

2.2.- Crecimiento y desarrollo del cultivo.-

Se distinguen tres fases principales: Vegetativa, reproductiva y de llenado de los granos.

La fase vegetativa se extiende desde la germinación de la semilla hasta el inicio de la diferenciación de la espiga. A su vez, se pueden diferenciar dos etapas, germinación-nascencia y ahijado.

Introducción

Fisiológicamente, la germinación comienza con la imbibición de la semilla, continúa una fase de notable activación enzimática y termina con la elongación de la radícula. Aunque, desde el punto de vista agronómico, se debe de incluir el crecimiento a través del suelo hasta la elongación del coleóptilo (Wellington, 1966). Cuando el grano ha absorbido suficiente cantidad de agua, dispone de oxígeno y la temperatura es la adecuada, el embrión pasa de vida latente a activa. La germinación comienza cuando la coleorriza emerge desde la base del grano, seguida días después por las raíces seminales secundarias.

La nascencia ocurre cuando el coleóptilo emerge a nivel del suelo recubriendo la plúmula. Posteriormente, la primera hoja atraviesa el coleóptilo y las raíces seminales crecen. La fase de germinación-nascencia finaliza cuando la plántula puede alimentarse a partir de la solución del suelo.

El ahijado comienza cuando el coleóptilo emerge y finaliza con la erección de los pseudotallos. A su vez puede dividirse en preahijamiento y ahijamiento. El preahijamiento se inicia cuando la primera hoja, todavía enrollada, perfora el coleóptilo. Al encontrarse esta aún en la primera mitad de su desarrollo, aparece el ápice de la segunda hoja, la planta posee cinco o seis raíces primarias. Una vez que las dos primeras hojas han mediado su desarrollo apunta la tercera; se puede distinguir el mesocotilo o rizoma, que termina en un abultamiento que se hincha progresivamente hasta formar la corona o nudo de ahijamiento, más

Introducción

largo cuanto más profunda sea la siembra. La aparición de la cuarta hoja y la emergencia del tallo principal marcan el final de esta etapa.

El nudo de ahijamiento está formado por un número variable de yemas, cada una de una hoja, en cuyas axilas se forman las yemas laterales, de las que se formarán los tallos secundarios. La aparición de la cuarta hoja coincide con el del primer brote hijo (T-1) y con la quinta el segundo (T-2); cada nueva hoja le corresponde la aparición de un tallo hijo. La primera hoja que se desarrolla depende de la profundidad de siembra y de la temperatura. Si el grano está a 5 cm de la superficie del suelo, la primera en crecer es la tercera yema axilar, pero si la siembra fue superficial, se puede desarrollar la yema del coleoptilo dando lugar a un tallo hijo que raramente llega a la madurez. El ahijamiento finaliza con la elongación de las vainas foliares y la erección plena de los pseudotallos.

La fase reproductiva se extiende desde que comienza el encañado hasta que la espiga se encuentra totalmente fuera de la vaina y presenta sus granos formados y acuosos. A su vez se subdivide en dos periodos, encañado y espigado.

Durante el encañado parte de los ahijamientos formados crecen y se desarrollan normalmente, dando lugar a espigas, mientras que los más pequeños no llegarán a florecer. Cuando existe un buen crecimiento, los entrenudos del tallo principal

Introducción

se alargan y desarrollándose una hoja en cada nudo. La elongación de los tallos secundarios se produce de una a tres semanas después que la del tallo principal (Hay, 1978), pero con mayor rapidez, por lo que al emerger la espiga, el crecimiento de todos los tallos se iguala (Bergal y Clemencet, 1962).

El alargamiento de los tallos no suele ocurrir hasta después de la iniciación floral. A continuación, el crecimiento se produce a partir del meristemo intercalar, alargan las vainas foliares y aparece la cavidad medular. El último entrenudo puede llegar a representar la mitad de la longitud del tallo (Rawson y Evans, 1971; Wardlaw, 1979). Al final, la altura de la planta puede variar entre 50 y 180 cm, dependiendo fundamentalmente del genotipo y de las condiciones ambientales.

La emergencia de la espiga comienza cuando la espiguilla terminal puede verse por encima de la hoja bandera y termina cuando la espiguilla basal sobrepasa dicha hoja (Zadoks *et al.*, 1974). La antesis tiene lugar tres o cuatro días después de la emergencia de la espiga, pudiendo reducirse en uno a tres días si el tiempo es cálido. Cuando las anteras amarillas aparecen fuera de las espiguillas, primero en la parte central de la espiga luego en los dos extremos, en este momento se considera que tiene lugar la floración completa del triticale.

El crecimiento del tallo tiende a estabilizarse, aunque el entrenudo superior puede continuar su extensión después de la

Introducción

antes. El área foliar alcanza su valor máximo poco antes de la floración, y luego decrece debido a la senescencia progresiva de las hojas y la muerte de los tallos. Igualmente el sistema radical se encuentra en este momento bien desarrollado.

El llenado del grano comprende desde la antesis a la madurez fisiológica. En comparación con la del trigo, la duración de esta fase en el triticale es mucho más larga. La longitud de este periodo está influenciada por los factores ambientales, sobre todo la pluviometría y temperatura, pero también por los factores genéticos. En este periodo suele ocurrir una disminución del peso seco del grano, causa principal de su arrugamiento o "asurado".

2.3.- Principales factores que afectan al crecimiento y desarrollo del cultivo.-

El desarrollo de los cereales se encuentra muy influenciado por los factores ambientales, entre los que cabe destacar el fotoperiodo, la temperatura y la humedad (Frank y Bauer, 1995; Kirby, 1995; Slafer y Rawson, 1995 a y b; 1996 a y b). El estímulo fotoperiódico lo perciben las hojas, las cuales mandan una señal al ápice del tallo (Gott et al., 1955; Evans, 1987); por tanto, las plantas no responden al fotoperiodo hasta que no emergen de la superficie del suelo (Hay y Kirby, 1991). Sin embargo, la respuesta a la temperatura y a la humedad comienza

Introducción

tan pronto como la semilla es imbibida y continúa hasta la madurez fisiológica (Angus *et al.*, 1981 a y b; Del Pozzo *et al.*, 1987; Porter *et al.*, 1987; Slafer y Savin, 1991).

La temperatura controla la respuesta del desarrollo en los cereales, especialmente en las variedades que requieren vernalización para pasar del período vegetativo al reproductivo. Temperaturas por debajo de 10°C satisfacen estas necesidades de vernalización (Flood y Halloran, 1984a). Las necesidades de frío no son las mismas para todas las variedades, debido a ello se pueden dividir en variedades de invierno, que deben pasar unos 60 días con temperatura bajas (comprendidas entre 0° y 6°C), variedades de primavera, que no requieren vernalización y variedades alternativas, que requieren algo de vernalización, pero menos que las de invierno (Royo, 1992; Gardner *et al.*, 1993).

En ambiente tipo Mediterráneo ocurre con frecuencia que, durante el periodo de llenado de los granos, se presenten periodos de altas temperaturas, casi siempre unidos a sequía. Se sabe que esto causa importantes disminuciones en la cosecha y en la calidad de los granos (Stone y Nicolas, 1995 a y b; Savin y Nicolas, 1996). En estas circunstancias, la mayor parte de los asimilados con destino a los granos provienen de las reservas del periodo vegetativo almacenadas en los tallos (García del Moral y Ramos, 1989; Kameli y Lösell, 1996). Las altas temperaturas

Introducción

estimulan el nivel de formación de primordios foliares en el ápice del tallo principal, lo que reduce en gran medida el número de tallos hijos que pueden formarse. Esto puede ser debido a una disminución en el suministro de asimilados a los ahijamientos, a causa del aumento de su demanda por el tallo principal. Las bajas temperaturas, por el contrario, aunque retrasan el desarrollo de los tallos hijos, suelen favorecer el ahijamiento, ya que disminuyen el crecimiento de las hojas y, por tanto, la competencia con los ahijamientos (Thorne, 1962; Cannel, 1969b; Kirby y Riggs, 1978; Kirby et al., 1987; López Bellido, 1991).

Además de la vernalización se necesita otro tipo de inducción que viene dado por el fotoperiodo. Se suele distinguir entre, plantas de día largo, con unas 14 horas de fotoperiodo crítico, plantas de día corto, cuyo fotoperiodo crítico es inferior a 14 horas y plantas de día neutro, las que no responden o lo hacen muy poco a la duración del día (Royo, 1992).

Normalmente, los fotoperiodos largos incrementan significativamente el nivel de iniciación de primordios de espiguilla (Rahman y Wilson, 1977; Kirby y Appleyard, 1980; Cottrell et al., 1985), sin embargo, la reducción en la longitud de las fases del desarrollo suele ser más importante, por lo que el resultado final es una disminución tanto en el número de hojas como de espiguillas del tallo principal (Rawson y Richards, 1993; Kernich et al., 1995b). Los fotoperiodos largos generalmente reducen el tiempo desde la siembra a la emergencia de la espiga

Introducción

(Mayor, 1980; Dwyer y Steward, 1987; Roberts *et al.*, 1988; Kernich *et al.*, 1996). Cuando este periodo se divide en varias fases, se considera que desde la formación de las dobles arrugas a primordio de aristas es más sensible al fotoperiodo que las demás (Slafer y Rawson, 1994b).

Por el contrario, los fotoperiodos cortos aumentan la duración de las fases de iniciación de primordios y reducen su velocidad, de forma que el número final de espiguillas es mayor (Craufurd y Cartwright, 1989). El número de tallos producidos y la supervivencia de los mismos también es superior con fotoperíodos cortos, debido a que en estas condiciones se retrasa la finalización de la fase de ahijamiento, lo que permite que se inicie un mayor número de brotes (Cannel, 1969b; Ellis y Kirby, 1980; Kirby y Appleyard, 1984).

La germinación y brotación están fuertemente influenciadas por el potencial hídrico del suelo. Bajo condiciones naturales puede bastar una precipitación de 20mm para que, en un suelo adecuado, se produzca el máximo porcentaje de germinación, aunque el posterior crecimiento y supervivencia de las plántulas requiere lluvia suficiente, cuya cantidad depende del genotipo y ambiente (Briggs, 1978).

La escasez de agua durante las primeras fases de desarrollo del meristemo apical retrasa el inicio de la floración, pero si el déficit se produce durante la diferenciación de la

Introducción

inflorescencia disminuye el número de espiguillas por espiga, lo que provoca una reducción en el número final de granos por espiga (Wych *et al.*, 1985). Deficiencias ligeras de agua deprimen la formación de primordios florales por el meristemo apical. Las deficiencias severas o más prolongadas pueden determinar el cese total de la diferenciación floral, conduciendo a que los tallos iniciados no produzcan espiga (Husain y Aspinall, 1970; Barlow *et al.*, 1977). La formación de los granos de polen es especialmente sensible a la escasez de agua en el suelo, deficiencias hídricas severas impiden la formación de polen fértil, en las espiguillas del ápice y base de la espiga (Jones y Kirby, 1977).

La humedad del suelo incrementa el número de espigas, al favorecer tanto la formación como la supervivencia de los tallos hijos (Kirby, 1968; Blum *et al.*, 1990; Krenzer y Nipp, 1991). Tras un periodo de sequía prolongado, el aumento de humedad no tiene repercusión sobre la producción de grano, ya que los nuevos tallos son inmaduros, verdes y sin espiga (Briggs, 1978), o con esta muy reducida y de rendimiento muy bajo (Blum *et al.*, 1990).

El déficit hídrico provoca en los cereales la alteración de numerosos procesos fisiológicos que afectan a determinadas rutas metabólicas (Hanson y Hitz, 1982; Kameli y Lösel, 1993). Entre sus principales efectos destacan aquellos que implican al metabolismo de los carbohidratos. Es conocido desde hace tiempo que los azúcares en tallos aumentan en condiciones de déficit

Introducción

hídrico (Munns y Weir, 1981; Drossopoulos et al., 1987). El nivel y duración del aumento en el contenido de azúcares depende de las condiciones ambientales y del genotipo (Kameli y Lösel, 1995). Se han sugerido varios factores que contribuyen a este incremento de carbohidratos solubles bajo déficit hídrico: a) reducida translocación de azúcares fuera de hojas y tallos; b) baja utilización debido a disminución en el crecimiento de la planta y c) aumentos en la hidrólisis del almidón (Kameli y Lösel, 1996). Un método que se ha utilizado para evaluar la movilización de las reservas desde los tallos al grano, es el uso de desecantes químicos, que provocan la destrucción de la fuente fotosintética después de la antesis. De hecho, se han encontrado correlaciones estadísticas muy elevadas entre la reducción de peso del grano causada por desecantes y por altas temperaturas (Blum et al., 1994; Royo et al., 1996). Se ha demostrado que la principal causa de la disminución en el peso de los granos fue el acortamiento de la fase de antesis a madurez fisiológica (Wheeler et al., 1996).

2.4.- Rendimiento en grano y sus componentes.-

El rendimiento en grano representa el producto final de la interacción de factores relacionados con el genotipo y con el ambiente, cuyos efectos individuales son difíciles de precisar. Sin embargo, se puede expresar en función de sus componentes, siendo los principales: número de espigas por unidad de

Introducción

superficie, número de granos por espiga y peso final de los granos.

Los distintos componentes del rendimiento se establecen secuencialmente a lo largo del desarrollo de la planta, lo que proporciona a los cereales la capacidad de compensar efectos adversos sobre los primeros componentes del rendimiento mediante la elevación de los siguientes. Precisamente esta es una de las razones que explican la elección de los cereales como cultivos desde tiempos remotos (Evans y Wardlaw, 1976; Royo et al., 1988).

El número final de espigas depende de la combinación de dos variables, el número de tallos producidos y la proporción de estos que darán lugar a espiga (Bulman y Hunt, 1988; Hucl y Baker, 1989; García del Moral et al., 1991b). Un elevado número de tallos hijos agrava la competencia por los factores nutritivos y por la luz siendo, por tanto, las condiciones ambientales y la densidad de población las que determinan el porcentaje de tallos que darán lugar a espiga y los que morirán sin hacerlo (Davidson y Chevalier, 1990).

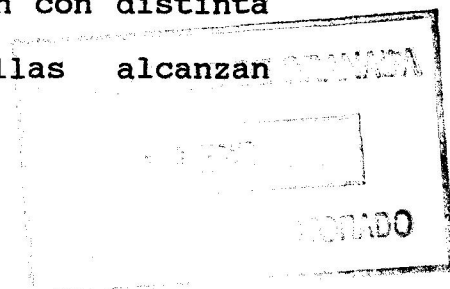
Independientemente de las condiciones ambientales y la variedad de que se trate, existe un patrón general para la evolución del ahijamiento (Bunting y Drenan, 1966). El número de tallos aumenta progresivamente hasta alcanzar un máximo al final del período de ahijamiento, después disminuye progresivamente hasta estabilizarse en el momento de emergencia

Introducción

de las espigas, manteniéndose así hasta la recolección (Watson et al., 1958; Thorne, 1962; Cannel, 1969a; Evans et al., 1975; García del Moral et al., 1984).

El número de granos por espiga está muy influenciado por las condiciones climáticas durante la formación de espigas y en la antesis. Las heladas tardías después de la emergencia de la espiga causan el aborto de muchas espiguillas, sobre todo las de la parte apical de la espiga. El aporte de nitrógeno incrementa el número de granos por espiga, principalmente a través de aumentos en: a) la fertilidad de las espiguillas; b) el tamaño y la actividad de la superficie fotosintética durante la formación de espigas, espiguillas y flores; y c) la capacidad de transporte de los asimilados fotosintéticos hacia la espiga y los granos (Sibony y Pinthus, 1988; Reilly, 1990). Por otra parte, un aumento en el número final de espigas por planta, generalmente se acompaña de una disminución en el número de granos por espiga y en el peso medio de los granos (Cannel, 1969a; Pollhamer, 1981; García del Moral et al., 1991b). En triticale, el número de granos por espiga es el resultado del producto del número de espiguillas por espiga y del número de granos por espiguilla.

Un aspecto muy interesante de los cereales es que todas las espiguillas fértiles florecen casi al mismo tiempo. Aunque transcurran varios días entre la iniciación de la primera y última espiguilla, estas crecen y se desarrollan con distinta velocidad. En antesis, todas las espiguillas alcanzan



Introducción

aproximadamente el mismo tamaño y se encuentran en idéntico estadio de desarrollo (Kirby y Appleyard, 1986). Entre la iniciación de la inflorescencia y la antesis pueden transcurrir unas pocas semanas o incluso algunos meses, normalmente dependiendo de la variedad y condiciones ambientales. Es deseable que la maduración de los granos se inicie pronto, para que no coincida con las elevadas temperaturas y falta de agua del verano (Kirby y Appleyard 1980; Kirby y Ellis 1980; García del Moral et al., 1991b).

El número de granos por espiguilla queda fijado en la antesis, cuando parte de las flores son fecundadas, dan lugar a granos y estos inician su desarrollo. Durante el crecimiento de la espiga, se crea un gradiente nutritivo tanto en la espiga como en la propia inflorescencia, que obliga a competir entre sí a las espiguillas de la base y del ápice del meristemo, a la vez que a las flores de cada espiguilla, produciéndose la muerte por inanición de las espiguillas y flores menos competitivas. La espiga ha de competir con hojas y tallos por el suministro de asimilados fotosintéticos. Se ha encontrado que la retirada de un cierto número de ahijamientos conduce a un aumento en el número de granos en la espiga del tallo principal, debido a que la reducción en la competición por los recursos disponibles permite que se inicien más espiguillas y que las flores sobrevivan en mayor proporción (Gallagher, 1979; Cottrell et al., 1985).

Introducción

El peso final de los granos es el último componente del rendimiento que se forma en el triticale. Es función de la duración de la fase de maduración y depende en gran medida del número de células del endospermo, siendo fijado en las fases iniciales del desarrollo del grano (García del Moral y Ramos, 1989). La velocidad de formación de células del endospermo está asociada con el suministro de carbohidratos durante este período y con el nivel de citoquininas del grano. En los cereales, el peso final del grano es un componente de la cosecha relativamente estable (Gallagher et al., 1975), estabilidad atribuida a la movilización de las reservas de carbohidratos almacenados en el tallo y otros órganos vegetativos, los cuales pueden compensar una disminución en la capacidad de fotosíntesis durante el llenado del grano, fenómeno frecuente en zonas secas y calurosas (Ramos et al., 1982; 1985).

La mayor parte del peso seco del grano proviene, en condiciones climáticas no limitantes, de la fotosíntesis después de la emergencia de la espiga (Thorne, 1966). No obstante, en condiciones limitantes, la contribución de las reservas de la preantesis aumenta considerablemente, llegando al 45% o más, muy posiblemente porque la fotosíntesis después de la emergencia de la espiga se encuentra muy limitada (Austin et al., 1980; García del Moral y Ramos, 1989; Acevedo et al., 1991).

Introducción

2.5.- Crecimiento del grano.-

En el triticale, el crecimiento del grano se inicia lentamente y continúa con una fase lineal a partir de un peso aproximado de 10mg, por lo que su peso final dependerá de la pendiente de la recta (que es función de la intensidad de la fotosíntesis y del aporte de carbohidratos desde las reservas vegetativas) y de la duración de la etapa de crecimiento determinada por los factores ambientales. La finalización del crecimiento del grano se relacionan más con la caída de la capacidad de síntesis del almidón, inducida por la deshidratación de las enzimas del endospermo, que con la falta real de asimilados (Evans *et al.*, 1975). La duración de llenado de grano en los cereales depende en gran medida de las condiciones ambientales durante la maduración (Wiegand y Cuellar, 1981; García del Moral Ramos, 1989; Ramos *et al.*, 1993). No obstante, en algunos casos ha sido posible encontrar diferencias genotípicas para este carácter, tanto en trigo (Bruckner y Frohberg, 1987) como en cebada (Rassmuson *et al.*, 1979; García del Moral *et al.*, 1991). También se ha observado variabilidad intraespecífica para la tasa de llenado del grano en trigo (Nass y Reisser, 1975; Wiegand y Cuellar, 1981; Bruckner y Frohberg, 1987), cebada (Ho y Jui, 1989), avena (Wych *et al.*, 1982) y triticale (Santiveri, 1992). El volumen del grano puede disminuir debido a una pérdida rápida de agua (más del 50% en una semana). Se ha sugerido que esta disminución de volumen representa una pérdida de potencial de almacenaje, no comprendiéndose por qué

Introducción

cesa el almacenamiento en situaciones en que todavía hay asimilados disponibles (García del Moral y Ramos, 1989).

El máximo peso seco del grano se alcanza durante el estadio de grano pastoso y seco. En función de la humedad y temperatura del aire, la humedad del ovario disminuye aproximadamente hasta el 40-45% en la madurez y hasta el 8-10% en la recolección. Se produce también una pérdida de peso seco, debido a los fenómenos respiratorios del grano, que también son función de la temperatura del aire (García del Moral y Ramos, 1989; Mitchell et al., 1991).

El llenado del grano en los cereales se realiza a partir de dos fuentes de asimilados, las reservas del periodo vegetativo acumuladas en los tallos y la fotosíntesis después de la antesis (García del Moral y Ramos, 1989; Schnyder, 1993; de Ruitter y Brooking, 1996). La importancia de cada fuente depende de la interacción de muchos factores que influyen el crecimiento del grano en los periodos de pre y post-antesis, además de la capacidad genética de la planta para movilizar reservas o continuar la fotosíntesis durante el llenado del grano. En condiciones de crecimiento y desarrollo favorables, la fuente dominante de asimilados a los granos es la fotosíntesis de la post-antesis (Daniels et al, 1982; Bonnett e Incoll, 1992). Experimentos de campo con cereales de invierno han demostrado que la contribución total de los tallos (excluyendo las hojas) a los granos fue del 30-40% (Bidinger et al., 1977; Bonnett e Incoll,

Introducción

1992), pero en estos trabajos no hay indicaciones sobre el efecto de las condiciones ambientales sobre este reparto de asimilados. Trabajos realizados en el Sur de España demuestran la gran importancia de las reservas de la preantesis en zonas secas y calurosas, habiéndose encontrado elevadas correlaciones estadísticas entre la producción de grano y el peso seco del cultivo en la antesis (Ramos *et al.*, 1985 y 1989). Las reservas de los tallos son también muy importantes en los cultivos con enfermedades después de la antesis, habiéndose calculado contribuciones de hasta el 70-90% al grano (Gallagher *et al.*, 1975; Scott y Dennis-Jones, 1976).

No parece que los triticales con granos asurados sean inferiores al trigo ni al centeno respecto a su capacidad de fijación de CO₂. En general los triticales almacenan mayor porcentaje de asimilados en el grano que otros cereales (Bertholdsson *et al.*, 1987). Se ha indicado que el asurado causado por la existencia de cavidades debidas a la degradación del endospermo no se relacionó con una alteración de la composición de carbohidratos respecto a granos bien formados (Salomonsson *et al.*, 1990).

Las proteínas mayoritarias en el grano de los cereales son las albúminas y las globulinas durante las 2 semanas posteriores a la antesis. Se ven superadas por las prolaminas (gliadinas) y las gluteninas, que aparecen entre los días 10 y 15 después de la antesis, y que se almacenan en cuerpos protéicos en las

Introducción

células endospermicas. Son proteínas de reserva, que contienen altas cantidades de ácido glutámico y prolina y una baja proporción de aminoácidos esenciales, en especial lisina y metionina (Evans *et al.*, 1975). El contenido de ambos aminoácidos limitantes (que definen la calidad nutritiva de una proteína) disminuye al aumentar el contenido de aminoácidos totales del grano.

El contenido de proteínas en el grano está influido por las condiciones climáticas. Las altas temperaturas y evaporación durante el período de llenado del grano contribuyen al incremento del contenido de proteínas en el mismo (Rao *et al.*, 1993). Se ha demostrado la existencia de correlaciones positivas entre los valores máximos de temperatura y el contenido de proteínas en el grano de trigo (Benzian y Lane, 1988). Estudios realizados en la provincia de Granada han demostrado la existencia de estrechas correlaciones de tipo inverso entre la pluviometría y el contenido de proteínas del grano de triticale cultivado en condiciones de secano (García del Moral *et al.*, 1994a).

2.6.- Asurado del grano de triticale.

El arrugamiento o "asurado" del grano consiste en que a diferencia de la semilla lisa y llena del trigo, la semilla madura del triticale tiene una cubierta rugosa, un pliegue profundo y carece de brillo, en contraste con la semilla de

Introducción

trigo. Constituye un medio inadecuado para el embrión y puede provocar una baja tasa de germinación. Como resultado, el grano de triticales resultaba poco atractivo para muchos agricultores y consumidores (Varughese et al., 1987). En los granos asurados parece haber una separación entre el pericarpio y la capa de aleurona (Lorenz et al., 1978). Peña et al. (1982), observaron una separación entre testa y pericarpio, disrupción y degeneración de las células de la capa de aleurona, presencia de gránulos de almidón dañados enzimáticamente y colapso de las células del endospermo.

El asurado del grano parece estar asociado a la presencia de cavidades, primero en el pericarpio y después en el endospermo, surco central, capas de aleurona y subaleurona (Heneen y Brismar, 1987). A veces falta una sección completa de aleurona y las células asociadas al endospermo (Simmons, 1974).

El asurado comienza a manifestarse en un tiempo variable después de la antesis en función de las condiciones ambientales, cuando el grano comienza a perder humedad. Además de un desarrollo irregular del endospermo debido a una asincronía en la división celular, en muchos casos el asurado procede de una interferencia con la función meristemática de la capa periférica del endospermo. Esto puede verse alrededor de 6-7 días después de la antesis y está ya establecido a los 10 días. La primera lesión es una invaginación de la capa externa meristemática del endospermo. En muchos casos esta invaginación está causada por

Introducción

un estrechamiento e intrusión de la epidermis nucelar entre las células adyacentes en división. En consecuencia ocurre una distorsión o división de la capa de aleurona. Un fenómeno asociado es la degradación de la capa meristemática, aparentemente por un ataque enzimático. Esto provoca la formación de áreas vacías justo debajo de la epidermis nucelar que puede conllevar o no la extrusión del contenido de las células del endospermo. Ambos fenómenos pueden ser la manifestación de una programación incorrecta en el desarrollo normal de los enzimas citolíticos asociados a la destrucción del tejido nucelar durante el principio de desarrollo del endospermo. En algunos granos asurados hay una gran área al principio del surco donde tanto la aleurona como las células del endospermo no se han desarrollado. Con frecuencia las células del endospermo en este área son pequeñas, distorsionadas y vacías de contenido. Es posible que, debido a la falta de vigor, haya una restricción en el número de células del endospermo y ello de lugar a una restricción en el llenado del grano en la madurez (Simmons, 1974). Parece, por tanto, incuestionable la relación entre las anormalidades del endospermo y el grado de asurado del grano en la madurez (Bennet, 1977).

Las causas a las que se le atribuye el asurado del grano son diversas, siendo, en muchas ocasiones, poco claras las relaciones entre ellas. Actualizando las citadas por Seal (1986) en un trabajo de revisión, se pueden agrupar en:

Introducción

- Aneuploidía.

- Anormalidades mitóticas (Kaltsikes *et al.*, 1975).

- Replicación tardía de la heterocromatina telomérica del centeno (Bennet, 1977; Kaltsikes y Gustafson, 1984; Heneen *et al.*, 1987).

- Inadecuada sincronización de los eventos ocurridos en las primeras etapas de desarrollo del endospermo.

- Anormalidades enzimáticas en la síntesis de almidón del endospermo y/o desecación precoz (Heneen *et al.*, 1987). Muchas de las lesiones del grano están también asociadas con una degradación de su estructura causada por la liberación prematura de cantidades anormales de alfa-amilasa en el tejido del endospermo (Simmons, 1974). El grano de triticale maduro tiene una actividad alfa-amilasa mayor que la encontrada en trigo (Müntzing, 1979) y parece que cuanto mayor es dicha actividad, mayor es el grado de asurado y menor la densidad del grano (Klassen *et al.*, 1971). Sin embargo otros estudios demuestran que esta relación puede no ser universal (Dedio *et al.*, 1975).

- Desequilibrio en la relación fuente sumidero, causado por una reducida capacidad de suministrar asimilados para llenar un grano de tamaño predeterminado (Heneen *et al.*, 1987). Según Peña *et al.* (1982), la causa fundamental del asurado del grano es la

Introducción

incapacidad del endospermo para llenar totalmente el sumidero que es el grano. Parece ser que en los tejidos del endospermo hay suficiente capacidad de conversión para asegurar un llenado completo del espacio disponible en el grano con almidón y compuestos similares pero, por una razón desconocida, esta capacidad no se explota totalmente en los genotipos de grano asurado (Bertholsson et al., 1987).

Se conocen un conjunto de efectos que pueden contribuir a la presencia del asurado:

La actividad del enzima alfa-amilasa durante el desarrollo y madurez del grano estaría relacionada con el asurado, éste puede ser el resultado de una rápida conversión de almidón en azúcares (mediada por la alfa-amilasa) previa a la germinación. La actividad alfa-amilasa, que es más cercana al parental centeno, está correlacionada negativamente con la densidad del grano, y por lo tanto, con la calidad (Klassen et al., 1971).

La correlación actividad alfa-amilásica y asurado no siempre se cumple. Así, Dedio et al. (1975), observaron actividad máxima de la alfa-amilasa en el pericarpio del grano de triticales unos 10-15 días después de antesis. Sin embargo, en algunas variedades de triticales, la actividad alfa-amilásica aumentaba notablemente en el endospermo y en la capa de aleurona en las últimas fases del desarrollo del grano y, en especial, en la madurez, lo cual conducía al asurado. Este fenómeno no aparece en todos los

Introducción

genotipos de triticale que manifiestan algún grado de asurado, por lo que no se puede concluir que el incremento de actividad alfa-amilásica esté siempre relacionado con el asurado (Ching et al., 1983).

El asurado del grano de triticale podría ser consecuencia de fallos en la biosíntesis de almidón, lo que daría lugar a una menor tasa de llenado y una terminación temprana de la deposición de materia seca (Heneen et al., 1987).

Estos fallos de síntesis pudieran ser, en parte, debidos a cambios en la actividad de los enzimas ADPG-pirofosforilasa, UDPG-pirofosforilasa y fosfoglucomutasa durante el crecimiento del grano. En genotipos de triticale con grano lleno, estas tres enzimas presentan un máximo de actividad durante el período de máxima acumulación de almidón (15-35 días después de antesis). Resultados experimentales indican que la ADPG-pirofosforilasa tiene una actividad 2-3 veces menor en las líneas de grano arrugado que en las de grano lleno, lo que indica que esta enzima juega un papel importante en este fenómeno (Ching et al., 1983).

Otro tipo de enzimas son las fosfatasas ácidas del endospermo, cuya actividad aumenta en los últimos estadios de desarrollo del grano. Estas enzimas reducen el sustrato destinado a la síntesis de almidón, lo que conduce a un llenado parcial del endospermo y necrosis generalizadas (Ching et al., 1984).

Introducción

Otro de los factores estaría relacionado con el desequilibrio genómico y anormalidades mitóticas ocasionadas, en principio, por el genomio del centeno.

Las semillas asuradas tienen un alto contenido de núcleos aberrantes (Kaltsikes *et al.*, 1975). Estos no se manifiestan en trigo, pero sí en centeno, por lo que la mayor proporción de éstos en triticales es debida bien al genomio del centeno o bien a la interacción trigo-centeno. El endospermo no podrá almacenar todo el almidón que permite su potencial, lo que conducirá a un arrugamiento del grano (Peña y Bates, 1982; Peña *et al.*, 1982).

Las condiciones ambientales durante el periodo de grano lechoso y pastoso, influyen en gran medida en la presencia del asurado. Los factores más importantes son las altas temperaturas y el déficit hídrico, condiciones que suelen darse durante el llenado del grano en ambientes tipo mediterráneo. Se ha comprobado que si la temperatura sube por encima de 30°C durante varios días y hay poca humedad en el suelo, aumenta notablemente la formación de granos arrugados.

2.7.- Calidad del grano de triticales.-

La proteína contenida en los cereales suele presentar un balance pobre en aminoácidos esenciales. Diversos estudios con

Introducción

granos de triticale arrugados han informado sobre un mayor contenido de proteínas del triticale respecto al trigo, con rangos entre el 15 y 22% (Skovmand *et al.*, 1984). Los avances en la mejora del desarrollo del grano han resultado en una disminución en el contenido de proteínas. Sin embargo, se ha comprobado que los triticales mejorados poseen igual o ligeramente mayor cantidad de proteínas que los trigos, así como un mejor balance de aminoácidos esenciales. El mayor contenido en lisina del triticale y su mejor digestibilidad proteínica, junto con el balance de minerales, lo hace especialmente adecuado para reemplazar o complementar a otros cereales en la alimentación humana y animal (Skovman *et al.*, 1984; Hegger y Eggum, 1991).

La digestibilidad del grano de triticale es parecida a la del trigo y superior a la del centeno y el contenido de vitaminas es similar al del trigo. Además el contenido de fósforo, potasio y manganeso es más alto que cualquiera de sus progenitores. La cantidad de gramos de fósforo por kilo de materia seca es de 4.5 en triticale comparado con los 3.8 del trigo y 4.1 del centeno, lo que lo convierte en un producto conveniente para la alimentación de cerdos y gallinas, animales cuyas necesidades de fósforo son considerables (Skovmand *et al.*, 1984; Royo, 1990).

3 . - MATERIAL Y METODOS

Material y Métodos

3.- MATERIAL Y METODOS.

3.1. Descripción de los ensayos en cámara de cultivo.

Con estos ensayos se pretendía determinar la influencia del fotoperiodo y la temperatura sobre el desarrollo y diferenciación del meristemo apical en cinco genotipos de triticale que paralelamente serían utilizados en los ensayos de campo. Los genotipos fueron Trujillo (variedad madre) y cuatro líneas isogénicas derivadas de Trujillo (genotipos T-1280-4, T-8-2, T-11-1 y T-155-1). Los ensayos se realizaron en cámara de ambiente controlado con iluminación de 6000 lux y humedad constante del 80%.

Se realizaron cuatro experimentos en los que se varió el fotoperiodo (FP) y la temperatura (T):

- Experimento 0: FP largo (18 horas día/6 horas noche) y temperatura baja (15°C día/5°C noche).
- Experimento 1: FP largo (18h/6h) y T alta (25°C/15°C).
- Experimento 2: FP medio (14h/10h) y T alta (25°C/15°C).
- Experimento 3: FP corto (10h/14h) y T alta (25°C/15°C).

Material y Métodos

El diseño consistió en bloques al azar con los cinco genotipos de triticale y tres repeticiones, situando las plantas en placas de 24 macetas de 6cm de diámetro por 12cm de altura, con sustrato de turbas puras con combinación de abonos, manteniendo la humedad a capacidad de campo.

El desarrollo de las plantas se siguió desde la fase de emergencia hasta hasta la de anteras verdes (Kirby y Appleyard, 1986), con una periodicidad de 2-4 días, dependiendo de la fase del ciclo. En cada muestreo se tomaron los siguientes parámetros del tallo principal de 5 plantas:

- Estadío de crecimiento (Zadoks et al., 1974).
- Estadío de desarrollo del meristemo apical (Kirby y Appleyard, 1986)
- Número de primordios de espiguilla del ápice en cada estadío.
- Longitud y anchura máxima del meristemo apical.
- Número de hojas emergidas y totales del tallo principal.
- Longitud del tallo principal.
- Superficie foliar de las hojas emergidas, medida con un planímetro digital (LICOR, LI-3000).
- Pesos secos por separado de hojas y tallos.

Con estos valores primarios se calcularon los siguientes parámetros:

Material y Métodos

- Duración en días de cada estadio.
- Niveles relativos de crecimiento del ápice.
- Tasa y duración de la iniciación de primordios.
- Tasa de aparición foliar.

3.2.- Disección del material vegetal

Para poder examinar el ápice del tallo es necesario retirar las hojas que lo envuelven, ya que durante el desarrollo vegetativo se encuentra situado en la base de los pseudotallos, a escasos milímetros por encima del nudo de ahijamiento.

Una vez retiradas las hojas maduras, se procedió con cuidado desenvolviendo las vainas de las hojas más jóvenes a partir de la base, donde se sitúa la zona de crecimiento. Cuando la hoja expuesta era de unos 30mm de longitud se continuó la disección bajo una lupa binocular con micrómetro incorporado, marca Nikon, hasta descubrir el meristemo apical. Como fuente luminosa artificial se utilizó un equipo de luz fría marca Volpi, modelo Intralux 4000, aconsejable para la observación y disección de material vegetal vivo por ocasionar menores pérdidas de agua en los tejidos.

Una vez descubierto el ápice, este presenta dos posibles visiones: de perfil, cuando se contempla en sentido perpendicular al plano de las hojas, lo que permite observar

Material y Métodos

simultáneamente las hileras de primordios a ambos lados del meristemo; y de frente, cuando se gira 90° con respecto a la posición anterior. De esta forma, desde la emergencia hasta la fase de anteras verdes, se determinó el estadio de desarrollo del ápice del tallo principal, utilizando como referencia la "Guía de desarrollo de los cereales" de Kirby y Appleyard (1986).

Número de primordios y tamaño del ápice.

El número de primordios y la longitud del meristemo apical fueron medidos cada 2-4 días aproximadamente. Para ello, siguiendo a Kirby y Riggs (1978), durante las fases iniciales del desarrollo se contó el número total de primordios sobre el meristemo apical.

También en cada meristemo se registró la longitud en milímetros desde el collar hasta el ápice y la anchura máxima del meristemo (mm).

Nivel de crecimiento relativo del ápice (Relative Growth Rate, RGR)

Representa el incremento en longitud del meristemo apical por unidad de longitud del ápice y por unidad de tiempo, permitiendo comparar la velocidad del progreso hacia la floración

Material y Métodos

entre los diversos genotipos de triticale, así como establecer correlaciones con los factores ambientales, especialmente fotoperiodo y temperatura acumulada.

Para su cálculo se ha utilizado la expresión (Ledent y Stoy, 1983):

$$RGRL = \frac{\ln L_2 - \ln L_1}{t_2 - t_1} (\text{longitud/longitud} \times \text{tiempo})$$

donde L1 y L2 son las longitudes en milímetros del meristemo apical en los tiempos t1 y t2.

3.3.- Climatología y localización de los ensayos de campo

Los ensayos de campo se han realizado durante las campañas agrícolas de 1993/94, 1994/95 y 1995/96 en dos zonas distintas de la provincia de Granada:

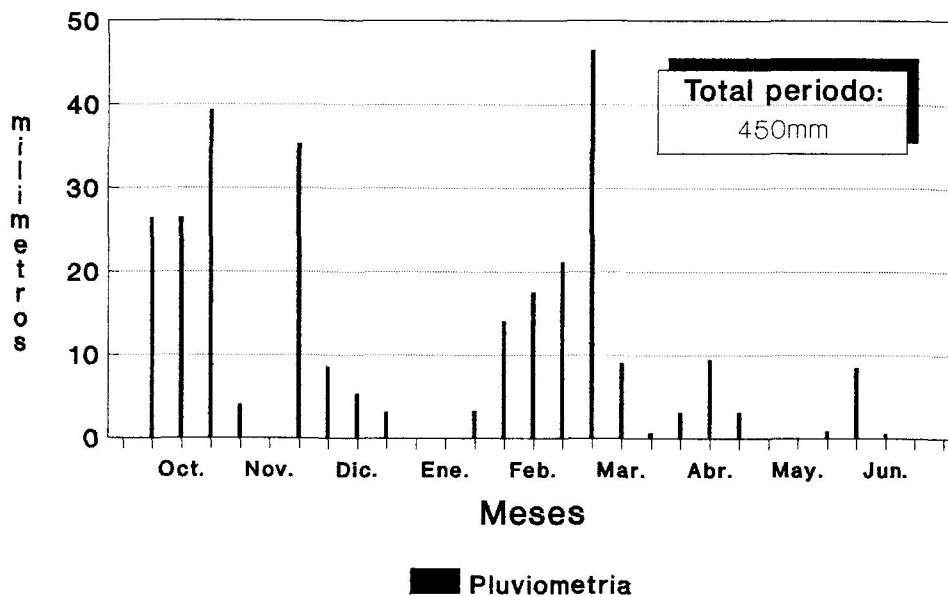
Chimeneas: Ambiente con pluviometría media de unos 450mm anuales (media de los últimos 20 años), situado en la zona del Temple, con una altitud de 700m sobre el nivel del mar.

Material y Métodos

Vega de Granada: Ambiente normalmente destinado a cultivos en condiciones de regadío, con unos 450mm de lluvia anuales, situado al sur-oeste de Granada y con altitud de unos 600m.

La climatología en las tres campañas ha sido muy diferente, pudiéndose considerar a la de 1993/94 como dentro de la media de los últimos 20 años en ambas zonas, a la de 1994/95 como de extrema sequía y a la de 1995/96 como muy lluviosa. En las Figuras 1 a 4 se muestran las temperaturas máxima y mínima, así como la pluviometría de cada campaña estudiada junto con los valores medios de los últimos 20 años.

Figura 1.- Campaña 1993/94
pluviometria



Temperaturas decenales

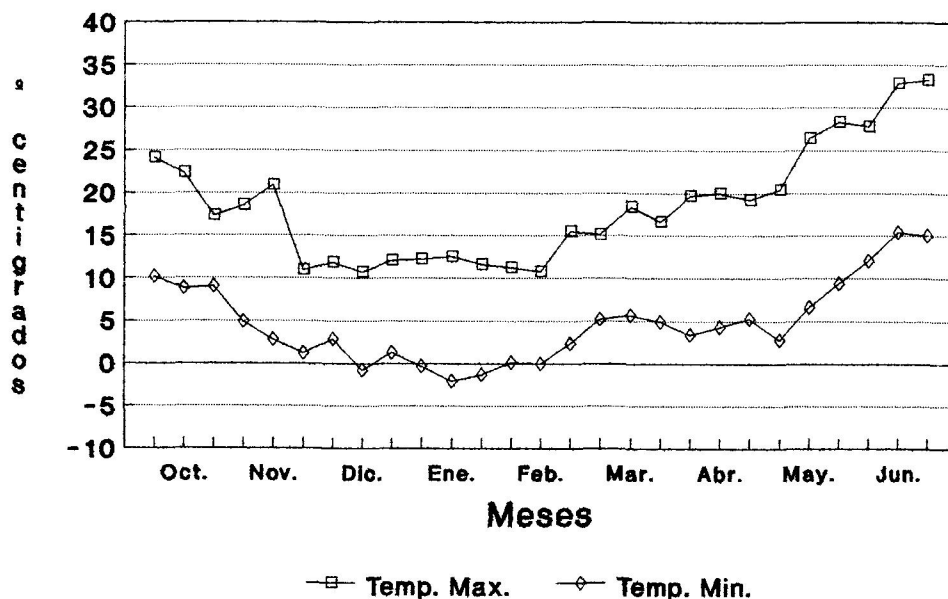
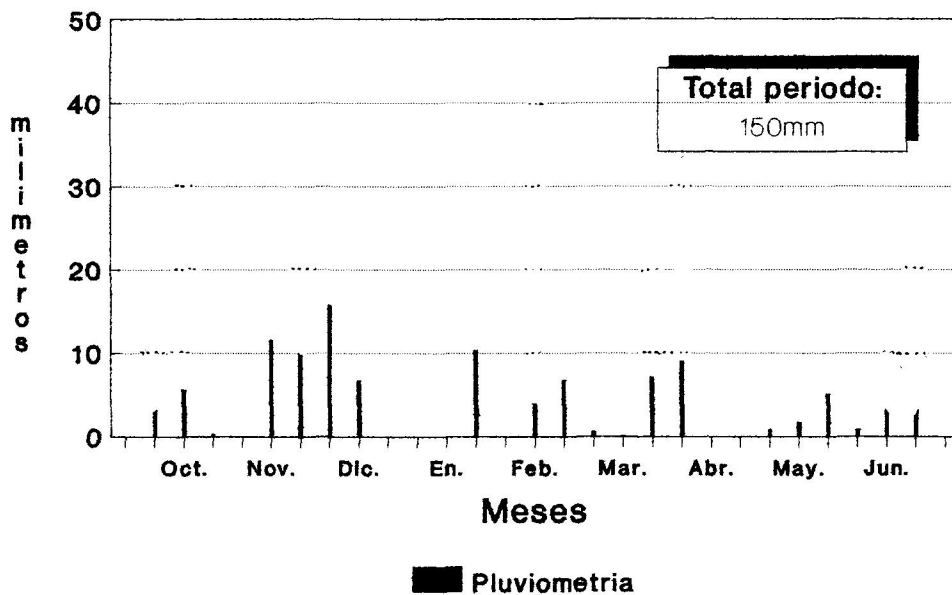


Figura 2.- Campaña 1994-95
pluviometria



Temperaturas decenales

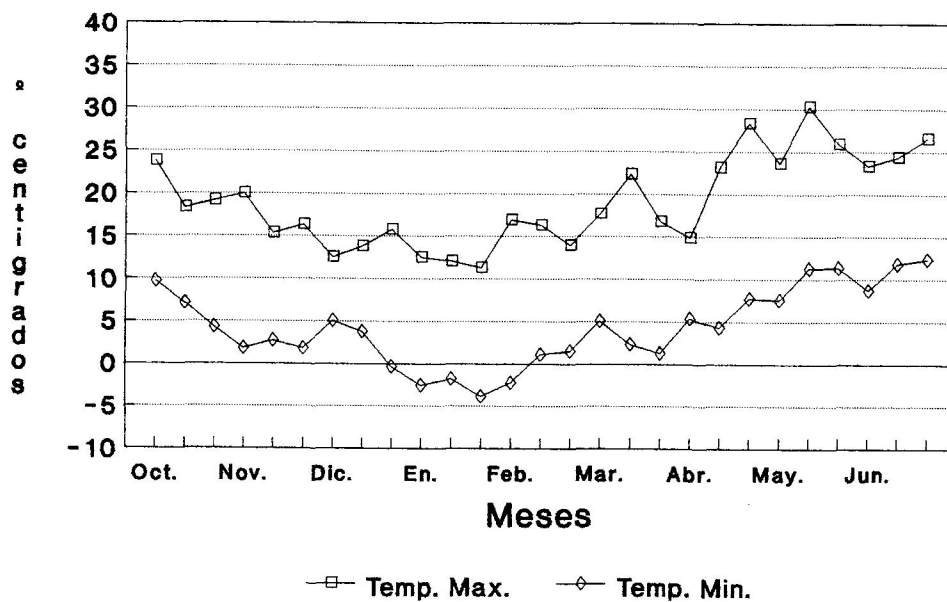
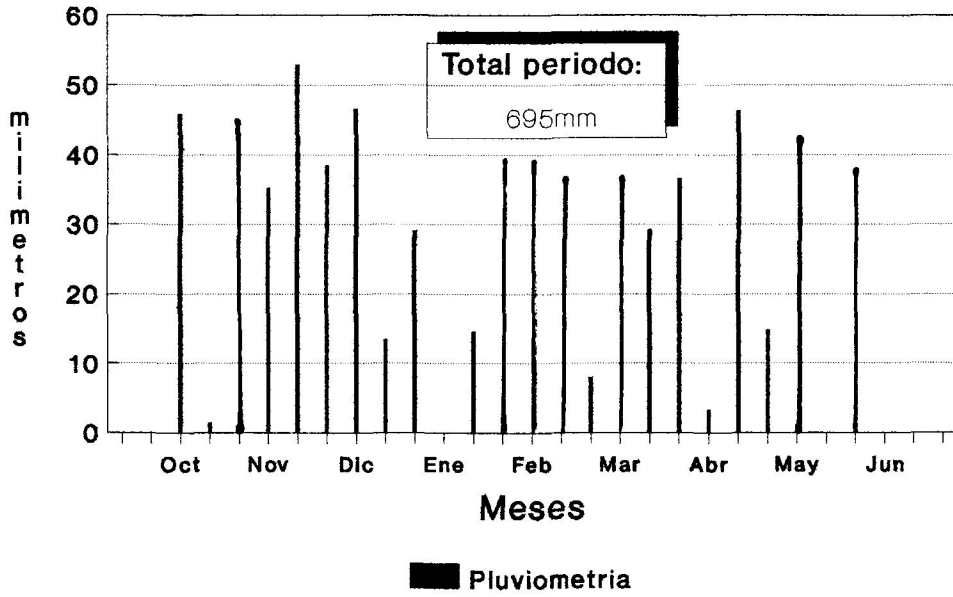


Figura 3.- Campaña 1995-96
pluviometria



Temperaturas decenales

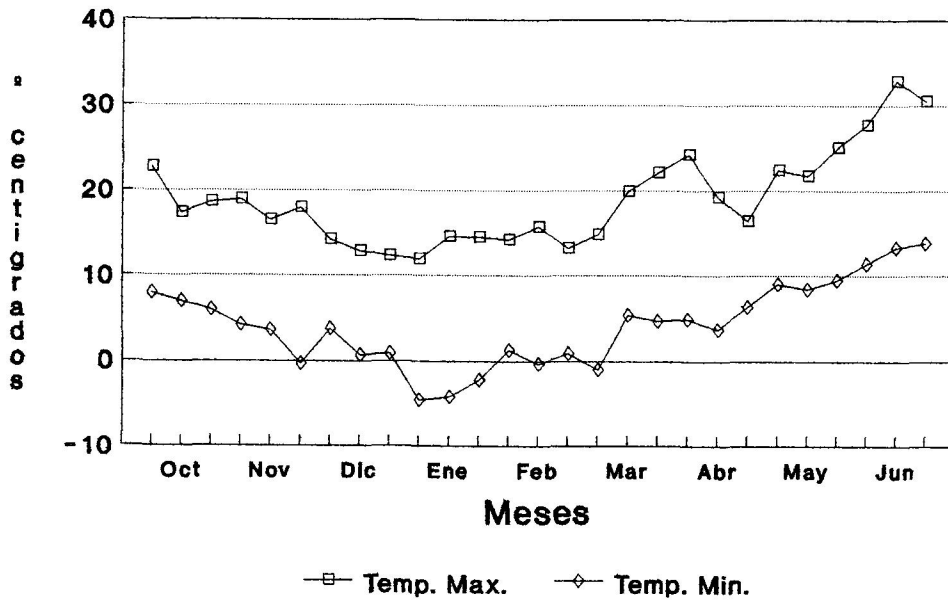
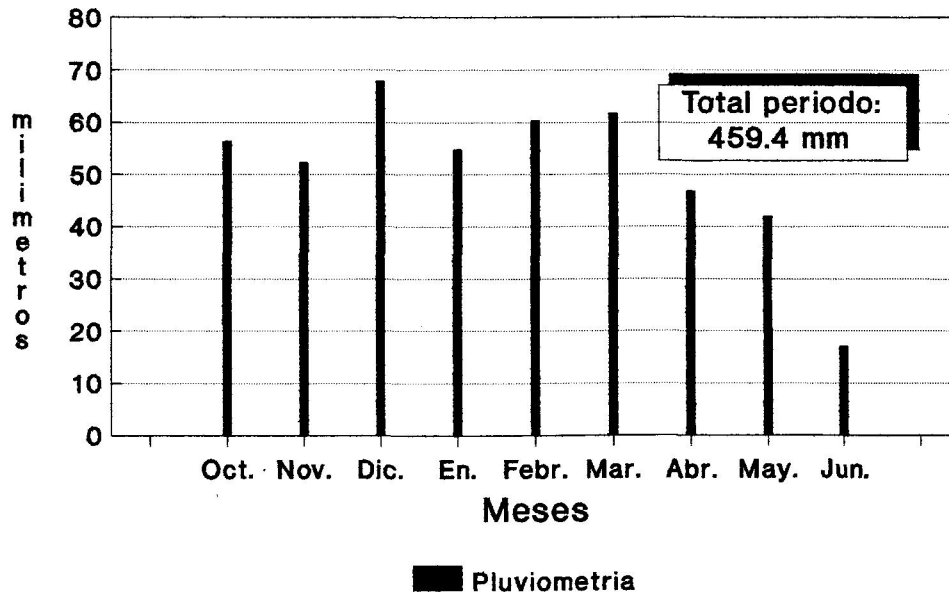
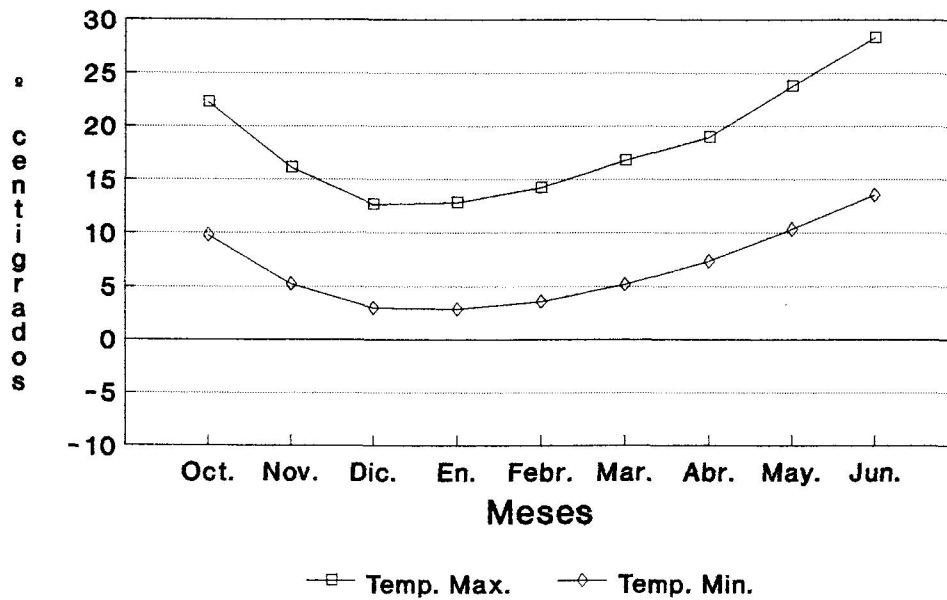


Figura 4.- Periodo 1976-1996
pluviometria



Temperaturas mensuales



Material y Métodos

Tabla 1.- Composición granulométrica y análisis químico del suelo en los 6 ensayos

	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	pH en agua	M.O. (%)	Ntotal (%)	Pasim (ppm)	Kasim (ppm)	Caliza act(%)	CO ₃ ⁼⁼ (%)
Regad 1994	37.9	51.2	10.9	8.2	1.89	0.12	50	70	3.1	10.5
Regad 1995	38.6	50.2	11.2	8	1.95	0.14	57	65	2.8	10.7
Regad 1996	42.3	46	11.7	8	2.01	0.19	41	80	2.9	10.9
Secano 1994	15.4	55.4	29.2	8.1	1.86	0.129	27	210	19.5	73.5
Secano 1995	16.9	57.8	25.3	7.9	1.9	0.12	23	205	20.3	70.4
Secano 1996	17.5	56.3	26.2	8	1.75	0.125	25	200	21.5	69.8

Según la clasificación de la FAO, el suelo del ambiente de regadío, Vega de Granada, pertenece al tipo Fluvisoles calcáreos. Se trata de suelos desarrollados sobre materiales típicamente aluviales, constituidos por arenas, conglomerados, arcillas y limos, poco o nada consolidados. Son suelos profundos, poco diferenciados, con un contenido medio-alto en materia orgánica y con estructura franco-limosa. Son suelos muy fértiles y normalmente destinados a cultivos en condiciones de regadío.

El suelo del ambiente de secano, zona de Chimeneas, pertenece al tipo Cambisoles cálcicos asociados a regosoles calcáreos. Desde el punto de vista de su morfología, constituyen suelos de perfil A-B-C, con una profundidad entre 40 y 100 cm.

La composición granulométrica y análisis químico de los suelos de los 6 ensayos se presenta en la Tabla 1.

Material y Métodos

3.4.- Diseño estadístico y determinaciones experimentales

Durante las tres campañas agrícolas de experimentación (1993/94; 1994/95 y 1995/96), se utilizaron los mismos genotipos de triticale indicados en los ensayos en ambiente controlado. La siembra se realizó en parcelas de 6 m² con 6 surcos en dos localidades de la provincia de Granada, una corresponde a un secano semiárido, Chimeneas, y la otra es una zona de regadío, en la Vega de Granada.

El diseño experimental utilizado en las tres campañas fue el de bloques al azar con los cinco genotipos, tratamientos con desecante y cuatro repeticiones. El desecante químico (IK al 0.3%) se aplicó una semana después de la antesis, según la metodología utilizada en el IRTA de Lérida (Santiveri, 1992). Con ello se pretendía cuantificar la importancia de las reservas vegetativas en el llenado del grano. Todo ello daba lugar a cuarenta parcelas por ensayo. Teniendo en cuenta que en cada campaña se realizaba un ensayo en condiciones de secano y otro en regadío, al finalizar el trabajo experimental teníamos datos de seis ensayos de campo, tres en condiciones de secano y otros tres en regadío, sobre un total de 240 parcelas.

Las fechas de siembra fueron:

	<u>SECANO</u>	<u>REGADIO</u>
CAMPAÑA 1993/94	25-11-93	27-11-93
CAMPAÑA 1994/95	5-12-94	7-12-94
CAMPAÑA 1995/96	29-11-95	1-12-95

Material y Métodos

Las dosis de fertilizantes de fondo (siembra y cobertera (fase de ahijado) fueron las mismas durante las tres campañas, dentro de cada ambiente:

	<u>AMBIENTE</u>	<u>Kg/ha</u>	<u>TIPO</u>
FONDO:	SECANO	200	15-15-15
	REGADIO	400	18-15-15
COBERTERA:	SECANO	150	Nitrato amónico-cálcico 33%
	REGADIO	250	" " " "

En el ambiente de Vega, los riegos se efectuaron en dos fases del desarrollo del cultivo, ahijado y encañado, simulando en cada ocasión, una precipitación de 300mm.

Técnicas de campo y laboratorio.

Durante las tres campañas se tomaron los siguientes datos:

- Número de plantas nacidas por unidad de superficie, tomando las plantas contenidas en 50 cm de uno de los surcos centrales de cada parcela.

- Estadío de crecimiento (Zadoks et al., 1974), tomando como muestra 5 plantas de cada parcela.

- En anthesis se etiquetaron 100 espigas de los tallos principales en cada parcela, recolectándose cinco de ellas dos

Material y Métodos

veces por semana hasta la madurez fisiológica del cultivo. De estas espigas, se eligieron 6 granos de las espiguillas centrales que sirvieron para obtener la curva de crecimiento del grano.

- En dos momentos clave del ciclo del cultivo (antes y madurez fisiológica) se hizo una medida de carbohidratos solubles en el tallo. Sobre una muestra de cinco tallos principales por parcela, se analizaron los carbohidratos solubles según la metodología de McCaig y Clarke (1982). Esta técnica está basada en la extracción de carbohidratos solubles en dos fracciones: a) con etanol (95%) hirviendo para extraer la mayor parte de los carbohidratos de bajo peso molecular (mono y disacáridos); y b) el residuo (otros oligosacáridos y fructosanos) se extrae mediante agua hirviendo. Los carbohidratos totales se extraen mediante el método del ácido fenolsulfúrico con un standard de sacarosa.

- Inmediatamente antes de la recolección, y sobre una muestra de 10 plantas homogéneas tomadas de 1 metro de surco por parcela, se determinaron los siguientes parámetros:

- . Número de espigas por planta.
- . Número de espiguillas por espiga.
- . Número de granos por espiga.
- . Peso del grano por planta.
- . Longitud del tallo principal.
- . Índice de cosecha.

Material y Métodos

- Una vez recolectadas las parcelas, con una cosechadora de ensayos, se determinaron los siguientes parámetros:

- . Rendimiento de grano.
- . Peso de mil granos.
- . Peso específico.
- . Porcentaje de humedad del grano.

La recolección se realizó, en todos los casos, a finales de Junio o en los primeros días de Julio.

3.5.- Estudio estadístico.-

El análisis estadístico de los datos se ha basado en la realización de análisis de la varianza y test de diferencias entre medias (mínimas diferencias significativas). Por otra parte, se analiza la interdependencia de unos parámetros con otros mediante correlaciones y regresiones simples y múltiples (Statgraphics, 1992).

4 . - RESULTADOS

Resultados

4.- RESULTADOS

4.1.- Estudio en cámara de ambiente controlado del desarrollo del meristemo apical de 5 genotipos de triticale en función del fotoperiodo y la temperatura.

El objetivo de estos ensayos fue comprobar, en cámara de ambiente controlado con iluminación de 6000 lux y humedad relativa constante del 80%, la influencia del fotoperiodo y la temperatura sobre el desarrollo y diferenciación del meristemo apical en relación al grado de precocidad del material vegetal (5 genotipos de triticale) utilizado en los ensayos de campo.

Se han realizado cuatro experimentos en cámara de crecimiento de plantas en los que se varió el fotoperiodo (FP) y la temperatura (T):

- Experimento 0: FP largo (18/6h) y T baja (15/5°C)
- Experimento 1: FP largo (18/6h) y T alta (25/15°C)
- Experimento 2: FP medio (14/10h) y T alta (25/15°C)
- Experimento 3: FP corto (10/14h) y T alta (25/15°C).

4.1.1.- Experimento 0 (FP largo y T baja).

Desde la emergencia se efectuaron muestreos de plantas cada 2-4 días durante dos meses consecutivos, sin que hubiese transición del meristemo apical de ninguno de los genotipos desde la fase vegetativa a la de doble arruga. Transcurrido este

Resultados

tiempo, se cambió la temperatura de baja (15/5°C) a alta (25/15°C) y al cabo de una semana todos los genotipos tenían los meristemos apicales de los tallos principales en fase de doble arruga.

4.1.2.- Experimentos 1 (FP largo y T alta), 2 (FP medio y T alta) y 3 (FP corto y T alta).-

a) Estudio de la duración de los estadios de desarrollo del ápice del tallo principal por genotipo y fotoperiodo.

Algunas fases de desarrollo se han agrupado debido a su corta duración, de manera que la secuencia de estadios estudiados fue:

- Vegetativo (EV)
- Doble arruga (DA)
- Primordios de glumas, de lemas y de flores (PGLF)
- Espiguilla terminal o máximo nº de espiguillas (ET)
- Duración desde doble arruga hasta espiguilla terminal (DAET)
- Primordio de aristas (PA)
- Anteras blancas y verdes (ABV).
- Duración total (TOT).

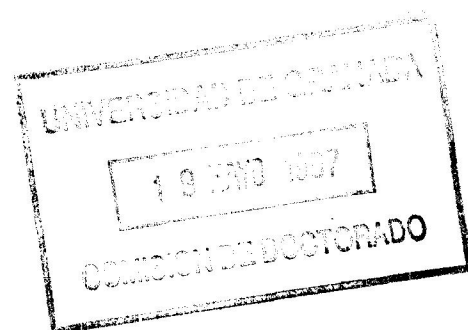
Los resultados (Tabla 2) demuestran que los genotipos se pueden dividir en tres grupos respecto a la duración de su ciclo de vida desde la siembra hasta la fase de anteras verdes. Como referencia tomamos la variedad Trujillo:

Resultados

Tabla 2.- Duración en días de los estadios de desarrollo del ápice de cinco genotipos de triticale sometidos a tres tipos de fotoperiodo.

	Vegetativo (VEG)	Doble arruga (DA)	Primordio de glumas lemas y flores (PGLF)	Espiguilla terminal (ET)	Doble arruga a espiguilla terminal (DAET)	Primordio de aristas terminal (PA)	Anteras blancas y verdes (ABV)	Total (TOT)
FP largo (18/6h)								
T-8-2	19.3b	5.7a	3.0b	3.7a	12.3a	3.3a	4.0a	39.0b
T-1280-4	18.0b	3.0b	3.0b	3.0a	9.0b	4.0a	4.0a	35.0c
T-155-1	28.0a	3.3b	3.7b	3.0a	10.0b	4.0a	3.0a	45.0a
T-11-1	18.0b	5.0a	5.0a	3.3a	13.3a	3.7a	4.0a	30.0b
Trujillo	18.0b	3.0b	3.0b	3.0b	9.3b	3.7a	4.0a	35.0c
FP medio (14/10h)								
T-8-2	25.0b	12.0a	4.0b	3.0a	19.0a	4.0a	4.0a	52.0b
T-1280-4	21.0c	8.7b	6.0a	3.3a	18.0ab	3.0a	3.0a	45.0c
T-155-1	28.0a	14.0a	3.0b	3.0a	20.0a	3.0a	4.0a	54.0a
T-11-1	28.0a	9.3b	3.7b	3.7a	16.7b	3.3a	4.0a	52.0b
Trujillo	21.0c	8.0b	4.0b	4.0b	16.0b	4.0a	4.0a	45.0c
FP corto (10/14h)								
T-8-2	39.0b	16.0b	8.0c	5.0a	29.0b	3.0b	3.0a	74.0b
T-1280-4	32.0c	13.0cd	12.3a	3.7b	29.0b	4.3a	4.0a	49.7c
T-155-1	44.0a	23.0a	12.0a	3.7b	38.7a	3.3b	4.0a	63.0a
T-11-1	40.0b	11.0d	11.0b	3.3b	25.3c	4.3a	4.3a	55.0b
Trujillo	32.0c	14.7bc	10.7b	3.3b	28.7b	4.3a	4.0a	49.7c
Total								
T-8-2	27.8b	11.2b	5.0c	3.9a	20.1b	3.4a	3.7a	55.0b
T-1280-4	23.7c	8.2c	7.1a	3.3a	18.7b	3.8a	3.7a	49.7c
T-155-1	33.3a	13.4a	6.2b	3.2a	22.9a	3.4a	3.7a	63.0a
T-11-1	28.7b	8.4c	6.6ab	3.4a	18.4b	3.8a	4.1a	55.0b
Trujillo	23.7c	8.6c	5.9b	3.6a	18.0b	4.0a	4.0a	49.7c
FP largo								
FP largo	20.3c	4.0c	3.5c	3.3a	10.8c	3.7a	3.8a	38.6c
FP medio								
FP medio	24.6b	10.4b	4.1b	3.4a	17.9b	3.5a	3.8a	49.6b
FP corto								
FP corto	37.4a	15.5a	10.8a	3.8a	30.1a	3.8b	3.9a	75.2a

a-d Medias seguidas por la misma letra dentro de cada columna y apartado no difieren estadísticamente a nivel de $P=0.05$, según un test de mínimas diferencias significativas.



Resultados

-Igual duración que Trujillo: Genotipo T-1280-4 (duración media de los tres ensayos 49.7 días)

-Más tardíos que Trujillo (tardíos moderados): Genotipos T-8-2 y T-11-1 (duración media de los tres ensayos 55 días).

-Más tardío que Trujillo (muy tardío): Genotipo T-155-1 (duración media de los tres experimentos 63 días).

Las diferencias en la duración del desarrollo entre los genotipos fueron debidas fundamentalmente a las distintas duraciones de los dos primeros estadios de desarrollo del ápice, vegetativo y de doble arruga. Estos resultados coinciden con los obtenidos por García del Moral et al., (1991) en cebada en condiciones de campo.

También se han encontrado diferencias en la duración de los estadios de desarrollo del ápice entre los 3 experimentos (Tabla 1). Con FP corto (Exp. 3) hubo 36 y 25 días más hasta la fase de anteras verdes que con FP largo (Exp. 1) y medio (Exp. 2), respectivamente. En ambos casos, las variaciones en la duración del desarrollo fueron debidas a diferencias en las fases vegetativa (17 y 13 días, respectivamente) y desde doble arruga hasta espiguilla terminal (20 y 12 días, respectivamente).

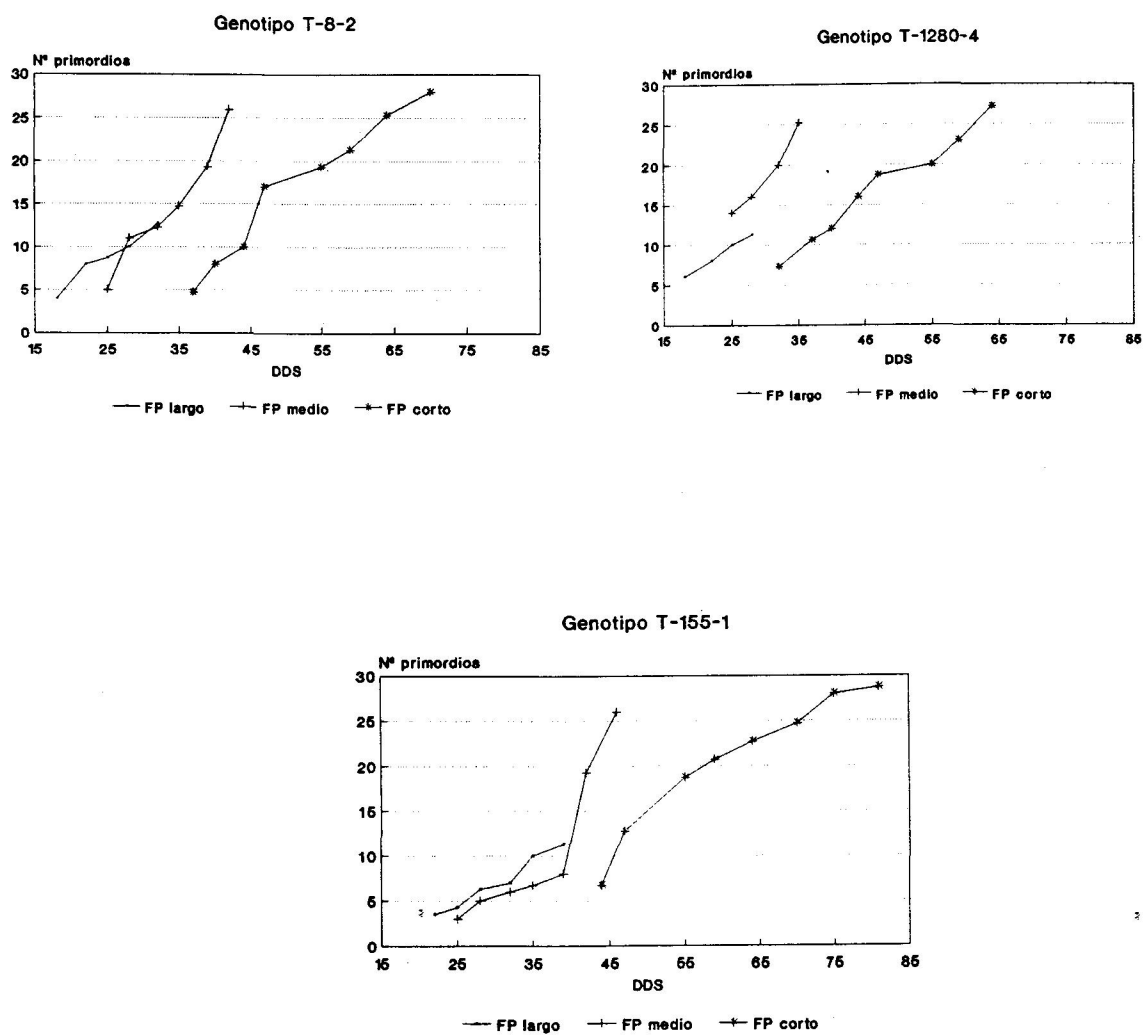
Resultados

b) Estudio de la evolución del número de primordios de espiguilla desde la fase de doble arruga hasta la de espiguilla terminal en función del genotipo y fotoperiodo.

En la Figura 5 se observa como la evolución del número de primordios es semejante (pendientes bastante similares) para cada agrupación de genotipos realizada según la duración de su ciclo. Existe, sin embargo, una diferenciación bastante clara en las evoluciones en función del fotoperiodo, de manera que a medida que disminuye el fotoperiodo aumenta la duración de las fases de desarrollo del meristemo apical y el número de primordios de espiguilla.

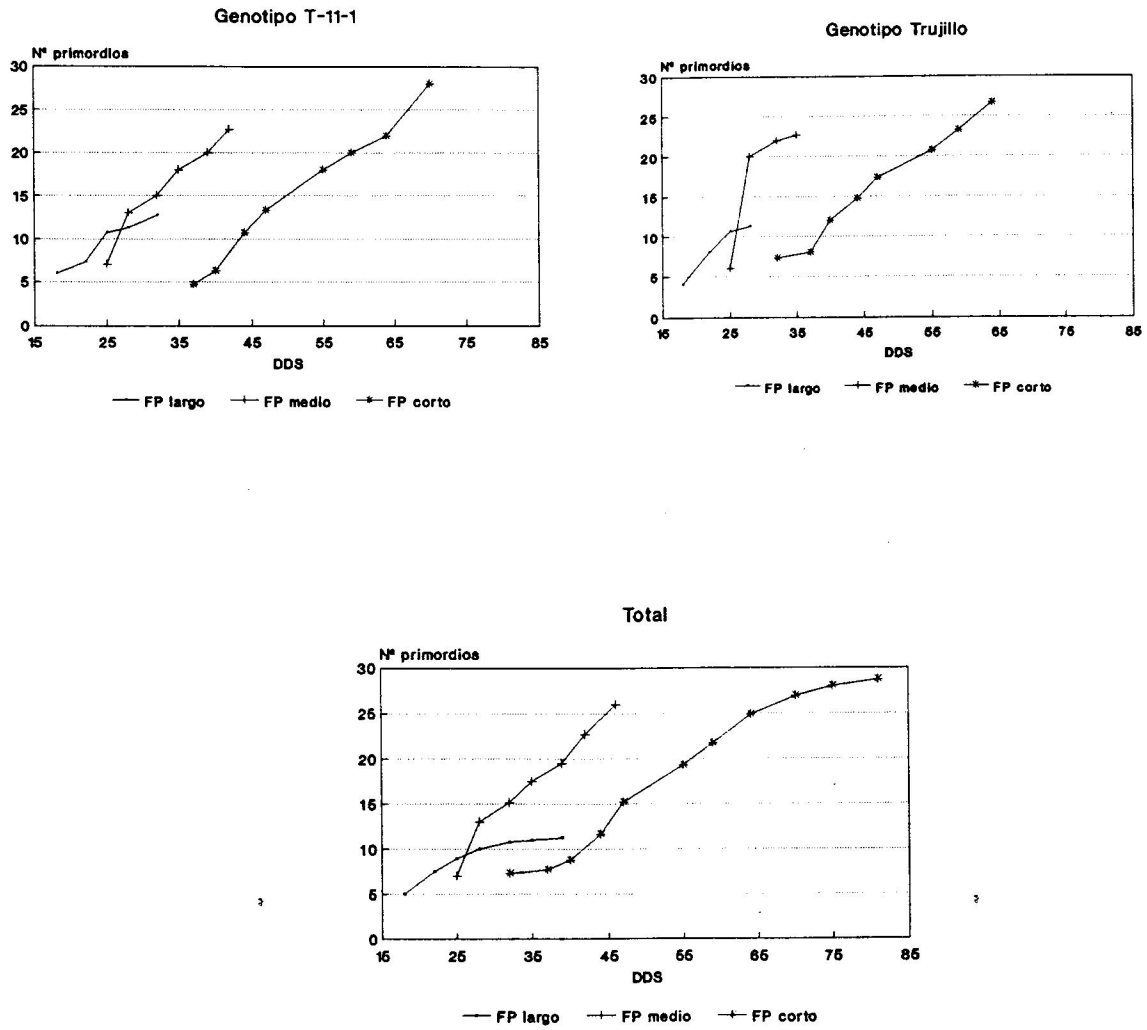
Resultados

Fig. 5 .- Evolución de primordios



Resultados

Fig. 5 (cont.).- Evolución de primordios



Resultados

c) Análisis del número de primordios en la fase de espiguilla terminal (máximo número de primordios de espiguilla) por genotipo y fotoperiodo.

En la Tabla 3 se demuestra que con FP corto (Exp. 1), no existieron diferencias estadísticas en el número máximo de primordios entre los distintos genotipos. Sin embargo, al disminuir el FP (Exps. 2 y 3) sí que se detectaron diferencias significativas entre genotipos, correspondiendo los mayores valores a T-8-2, T-1280-4 y T-155-1. Respecto a los diferentes experimentos, se comprobó (Tabla 3) una muy notable variación en el máximo número de primordios en función del FP. Así, con FP largo (Exp. 1) el número de primordios en espiguilla terminal fue muy inferior al obtenido con los FPs medio y corto (Exps. 2 y 3), con reducciones significativas del 51 y 57% respectivamente.

Tabla 3.- Número de primordios de espiguilla en la fase de espiguilla terminal (máximo número de primordios), de 5 genotipos de triticale sometidos a 3 fotoperiodos diferentes.

Genotipo	FP largo	FP medio	FP corto	Total
T-8-2	12.7a	26.0a	28.0a	22.2a
T-1280-4	11.3a	25.3a	27.3ab	21.3ab
T-155-1	11.3a	26.0a	28.7a	22.0a
T-11-1	12.7a	22.7b	26.7b	20.7ab
Trujillo	11.3a	22.7b	26.7b	20.2b
Total	11.9	24.5	27.5	

a-d Medias seguidas por la misma letra dentro de cada columna y apartado no difieren estadísticamente a nivel de $P= 0.05$, según un test de mínimas diferencias significativas.

Resultados

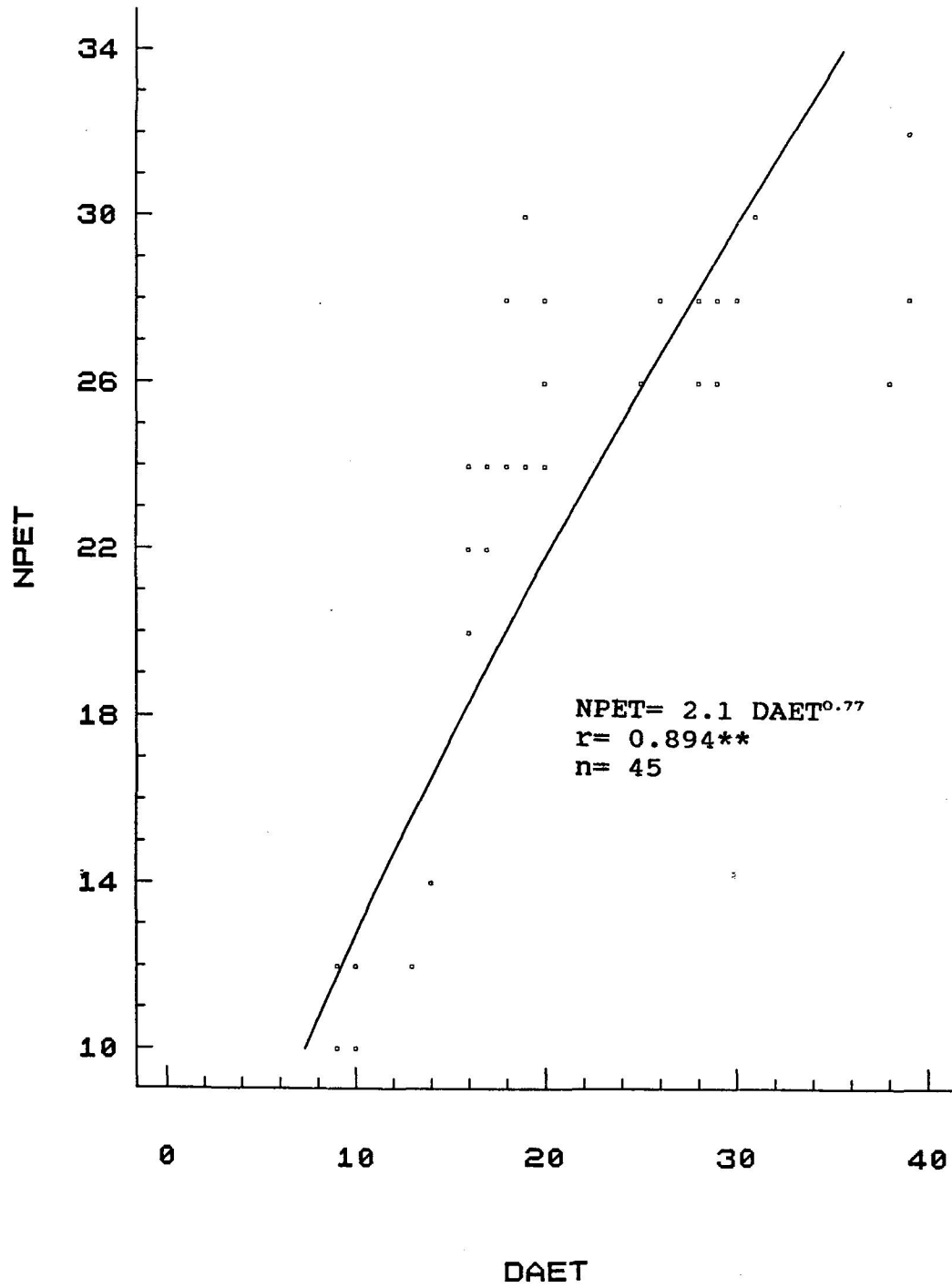
d) Correlaciones y regresiones simples entre el máximo número de primordios y la duración del periodo desde doble arruga hasta espiguilla terminal para el total de genotipos y fotoperiodos.

De los resultados obtenidos en los apartados anteriores, parece deducirse una cierta dependencia del número máximo de primordios de espiguilla de la duración del ciclo de vida de la planta (el cual depende también del fotoperiodo utilizado en cada experimento). Para determinar si esta dependencia era estadísticamente significativa, se han realizado análisis por correlación y regresión simples entre el número de primordios de espiguilla en la fase de espiguilla terminal (NPET) y la duración de las fases de desarrollo del ápice indicadas en el primer apartado. Los resultados, realizados para el conjunto de los 3 experimentos (Figura 6), demuestran la existencia de estrechas correlaciones entre NPET y la duración del periodo entre la doble arruga y la fase de espiguilla terminal (DAET), ajustándose la regresión a una curva potencial ($r= 0.894$; $P= 0.01$).

Estos resultados nos permiten explicar el por qué los genotipos sometidos a FP corto y medio (Exps. 3 y 2), que alcanzaron mayor duración en su ciclo de vida que con FP largo (Exp. 1), también presentaron mayor número de primordios en la fase de espiguilla terminal.

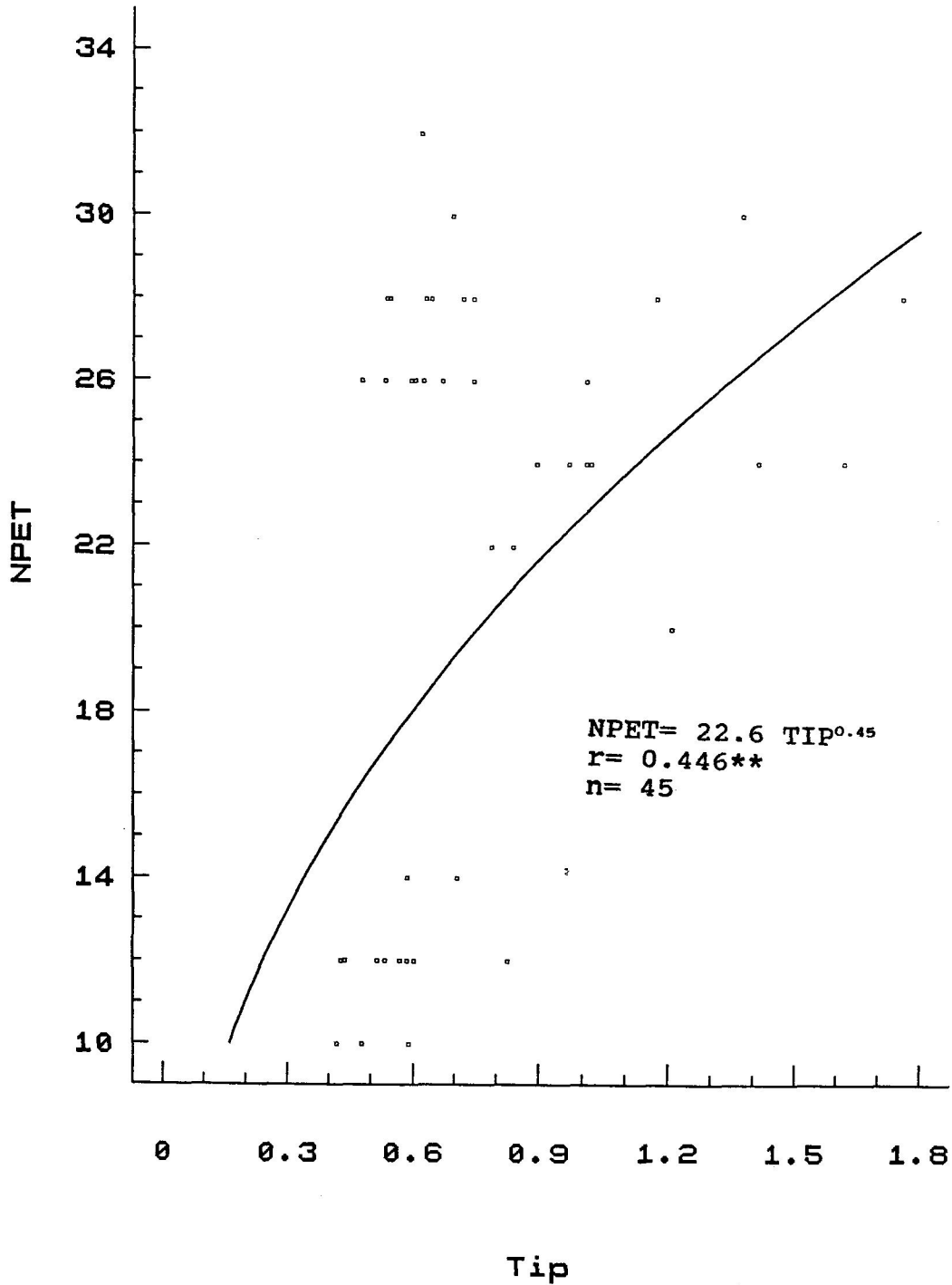
Resultados

Fig. 6 .- Regresion de NPET frente a DAET
para los 3 fotoperiodos conjuntamente



Resultados

Fig. 7 .- Regresion de NPET frente a Tip para los 3 fotoperiodos conjuntamente



Resultados

e) Estudio de la tasa de iniciación de primordios por genotipo y fotoperiodo.

La tasa de iniciación de primordios de espiguilla (TIP, número de primordios formados/día), se ha obtenido para intentar establecer las diferencias en la capacidad de producción de primordios entre los distintos genotipos y experimentos. TIP se ha calculado como la pendiente de la recta de regresión del número de primordios frente al tiempo (Kirby, 1970; Kirby et al., 1987). Los resultados (Tabla 4), demuestran que el genotipo con mayor TIP en el conjunto de ensayos, fue Trujillo, seguido por T-1280-4 y T-8-2 sin diferencias estadísticas y de T-155-1 y T-11-1 con diferencias significativas.

Respecto a las diferencias entre FP (Tabla 4), con FP medio (Exp. 2) los genotipos presentaron una velocidad de iniciación de primordios significativamente superior (aproximadamente el doble) que con FP largo o corto (Exps. 1 y 3), sin que entre estos dos últimos hubiera variabilidad estadística.

Tabla 4.- Tasa de iniciación de primordios de espiguilla (número de primordios formados/día) de 5 genotipos de triticale sometidos a 3 fotoperiodos diferentes.

Genotipo	FP largo	FP medio	FP corto	Total
T-8-2	0.609ab	1.136b	0.696a	0.815ab
T-1280-4	0.542b	1.529a	0.589ab	0.887a
T-155-1	0.493b	1.051b	0.545b	0.697b
T-11-1	0.514b	0.841b	0.675a	0.677b
Trujillo	0.748a	1.484a	0.623ab	0.952a
Total	0.581b	1.208a	0.626b	

a-d Medias seguidas por la misma letra dentro de cada columna y apartado no difieren estadísticamente a nivel de P= 0.05, según un test de mínimas diferencias significativas.

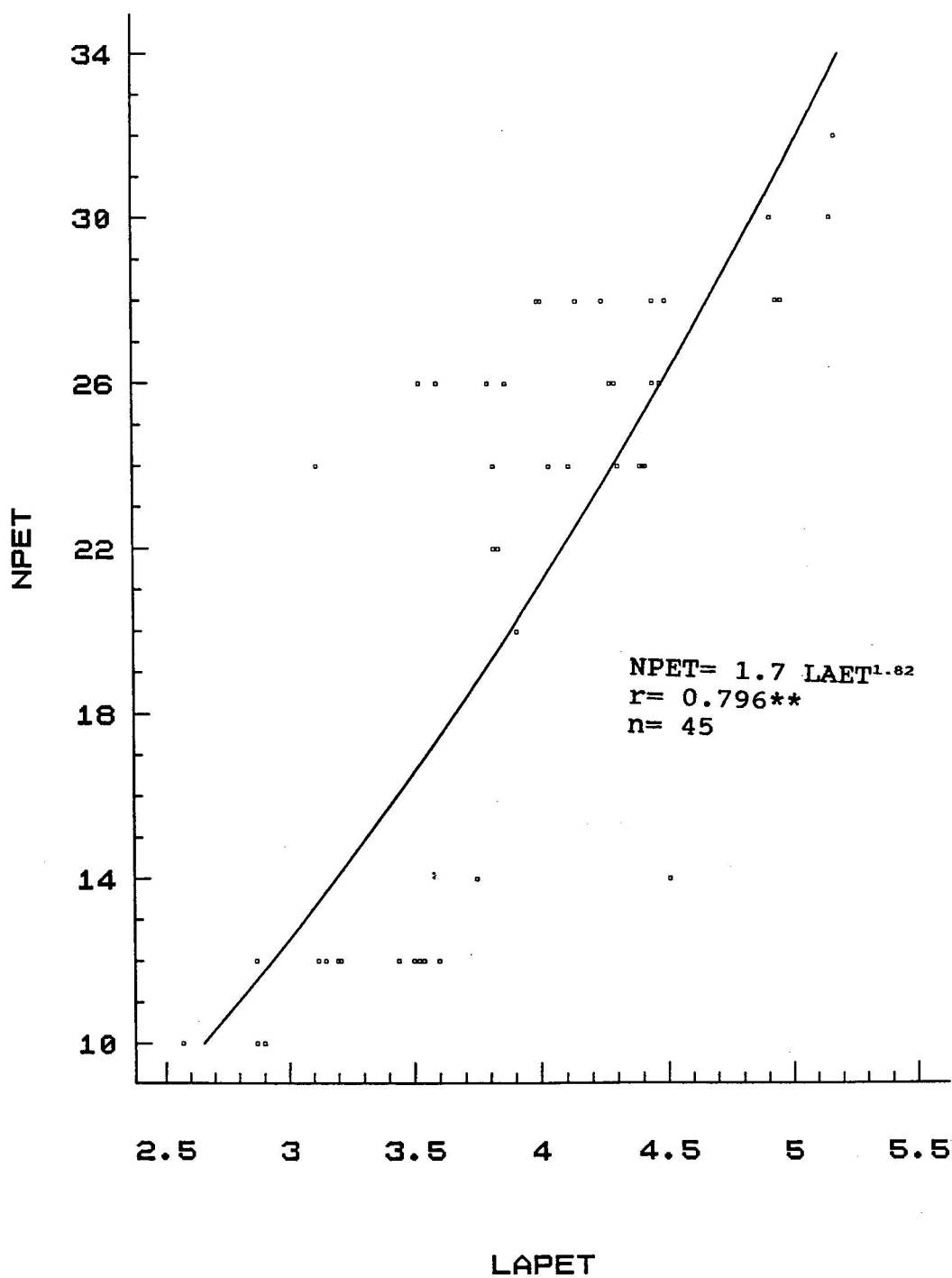
Resultados

f) Correlaciones y regresiones simples entre el número de primordios en espiguilla terminal y la tasa de iniciación de primordios para el total de genotipos y fotoperiodos.

Para tratar de averiguar estadísticamente si el número de primordios en espiguilla terminal se relacionaba más con la duración del ciclo de desarrollo o con la velocidad de iniciación de primordios, se realizaron correlaciones y regresiones simples entre NPET y TIP. Los resultados demostraron que el número máximo de primordios dependía más estrechamente de la duración del período desde doble arruga a espiguilla terminal ($r= 0.894^{**}$; Figura 6) que de la velocidad de formación de primordios ($r= 0.446^{**}$; Figura 7).

Resultados

Fig. 8 .- Regresion de NPET frente a LAPT para los 3 fotoperiodos en conjunto



Resultados

g) Influencia del genotipo y del fotoperiodo sobre la evolución de la longitud del meristemo apical desde la fase de doble arruga hasta la de espiguilla terminal.

Para este estudio, se han considerado las siguientes 5 fases de desarrollo del ápice de forma individualizada, doble arruga (DA), primordio de glumas (PG), primordio de lemas (PL), primordio de flores (PF) y espiguilla terminal (ET). Los resultados (Tabla 5), indican que con FP largo (Exp. 1) no se encontró variabilidad estadística entre la longitud del ápice de los genotipos durante las dos primeras fases estudiadas, doble arruga y primordio de glumas. Sin embargo, a partir del estadio de primordio de lemas, el genotipo con mayor longitud del ápice fue T-11-1, manteniéndose este hecho durante la fase de primordio de flores, aunque en la última fase (espiguilla terminal), la longitud del ápice de T-11-1 fue igualada significativamente por la de T-8-2. Entre los tres restantes genotipos no existieron diferencias estadísticas en cuanto a la longitud de su meristemo apical en ninguna de las fases estudiadas.

En el caso de los ensayos con FP medio y corto (Exps. 2 y 3), durante la fase de doble arruga ningún genotipo difirió en la longitud de su meristemo apical. Durante las fases de primordio de glumas, lemas y flores, ya se detectó alguna variabilidad entre los diversos genotipos. Pero fue en espiguilla terminal cuando se conformaron 2 grupos bien diferenciados de genotipos respecto a la longitud del meristemo apical: T-8-2,

