



**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**DEPARTAMENTO BIOLOGIA VEGETAL**



## **TESIS DOCTORAL**

**Adaptación del Trigo Duro al Ambiente Mediterráneo:  
Rendimiento, Calidad, y Parámetros Morfofisiológicos de  
Selección para Resistencia a la Sequía**

**Yahia Rharrabti**  
**Granada, 2001**

T. Prov. 24/4

T  
17  
6

UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 17/05/01
ENTRADA NUM. 1953

## Adaptación del Trigo Duro al Ambiente Mediterráneo: Rendimiento, Calidad, y Parámetros Morfofisiológicos de Selección para Resistencia a la Sequía

Memoria de Tesis presentada por Yahia Rharrabti para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada

El presente trabajo se ha realizado en el departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Granada bajo la dirección del Dr. Luis F. García del Moral Garrido. Se enmarca dentro del proyecto CICYT AGF96-1137-CO2-02: «Estudio de criterios morfofisiológicos de selección como aproximación analítica a la mejora del trigo duro para resistencia a la sequía» y del proyecto INIA SC97-039-C2-02: «Estudio de la adaptación del trigo duro a los estreses abióticos terminales y su relación con la calidad de la cosecha».



Para la realización de esta tesis doctoral, he disfrutado durante tres años de una beca predoctoral otorgada por la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI).

Vº.Bº. del Director de Tesis

Firma del Doctorando

BIBLIOTECA	UNIVERSIDAD DE GRANADA
GRANADA	
Nº Documento	5065745x
Nº Copia	21239253

Fdo. Dr. LUIS F. GARCIA DEL MORAL

Fdo. Yahia Rharrabti

Granada, 2001

## AGRADECIMIENTOS

Antes de presentar este trabajo, quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas y organismos que han contribuido a la realización de este documento. Asimismo, soy consciente de que otras personas han contribuido anónimamente a este trabajo. A ellas también mi sincera gratitud.

Quiero expresar mi profunda gratitud al Dr. D. Luis F. García del Moral por brindarme la oportunidad de formarme en el mundo de la fisiología de los cereales a través de esta Tesis y por las muchas horas de trabajo que ha empleado en ella. Su apoyo, orientación y amistad son las que han hecho posible este trabajo.

A la Dra. Conxita Royo, del IRTA de Lérida, le agradezco mucho el apoyo e interés que ha mostrado durante todas las fases de elaboración de esta Tesis y por ponerme en contacto con mi director de Tesis. Mi gratitud, igualmente, por suministrarnos durante todos estos años, las semillas para la siembra.

Al Dr. D. José Marinetto del CIFA de Granada por facilitar todos los medios necesarios para los ensayos de campo y por su inestimable colaboración durante el desarrollo de este trabajo. Al Dr. D. Jorge Aracil y a D. Carlos Conradi del CIFA Jerez de la Frontera, por su asistencia la realización de los ensayos en campo. Asimismo a D<sup>a</sup> Araceli Cabello por su ayuda en el seguimiento y trabajo de campo.

Al Dr. Miloudi Nachit de ICARDA por proporcionar parte del material vegetal objeto de este estudio

Mi agradecimiento a mis incansables amigos y compañeros del laboratorio: Sliman, Vanessa, Luis Roca, Daniel y Gustavo, por su ayuda incondicional en la realización de las tareas experimentales del presente trabajo.

Quiero agradecer también a la Dra. Dolors Villegas y Nieves Aparicio, del IRTA de Lérida, por su apreciada ayuda y colaboración.

Agradezco también al Dr. Gustavo A. Slafer por sus interesantes sugerencias y comentarios y a D. Alfonso Arestegui, decano de la Facultad de Biología de la Universidad de S. Antonio en Cuzco (Perú) por su amabilidad y apoyo al Dr. Ernesto Igartua del CSIC (Zaragoza) por sus consejos y ayuda.

A mis amigos en Granada, especialmente Yassir, Mourad y los compañeros de la casa Alberto. A Farida también por su continuo apoyo y ánimo.

A todo los miembros del departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Granada.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
CONTENIDO.....	iii
RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS. ....	1
CAPITULO 1.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
2.1. Material Vegetal .....	20
2.2. Descripción de los ensayos .....	21
2.4. Análisis estadístico .....	24
3. RESULTADOS .....	27
3.1. Análisis de Varianza .....	27
3.2. Comparación entre medias de años, ambientes y genotipos .....	29
3.3. Estudio de la relación rendimiento-proteína.....	31
3.4. Heredabilidad del rendimiento en grano, contenido en proteína e índice de cosecha.....	33
3.5. Influencia de las variables climáticas sobre la acumulación de la proteína en el grano .....	33
4. DISCUSIÓN .....	35
CAPITULO 2.....	39
1. -INTRODUCCIÓN .....	41
2. MATERIAL Y METODOS.....	48
2.1. Métodos analíticos.....	48
2.2. Análisis Estadístico.....	51
3. RESULTADOS .....	54
3.1. ANOVA y componentes de la varianza.....	54
3.2. Comparación entre medias .....	58
3.3. Análisis por componentes principales .....	60
3.3.1. Aproximación ambiental .....	60
3.3.2. Aproximación genotípica .....	62
3.4. Estudio de relaciones entre los diferentes parámetros de calidad .....	64
3.4.1. Correlaciones genéticas y fenotípicas .....	64
3.4.2. Análisis por coeficientes de sendero .....	66
4. DISCUSIÓN .....	69

CAPITULO 3.....	73
1. INTRODUCCIÓN.....	75
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	78
2.1 Metodología experimental .....	78
2.2 Análisis estadístico .....	79
3. RESULTADOS .....	82
3.1 Ajuste de la curva del llenado del grano .....	82
3.2 Estudio de los parámetros del llenado del grano .....	85
3.3 Relación de los parámetros del llenado del grano con el rendimiento y el contenido en proteína .....	88
3.3.1 Análisis por componentes principales.....	88
3.3.2 Análisis por coeficientes de sendero .....	90
4. DISCUSIÓN .....	93
CAPITULO 4.....	97
1. INTRODUCCIÓN.....	99
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	103
2.1 Caracteres medidos .....	103
2.2 Análisis estadísticos .....	104
2.2.1 Métodos univariantes paramétricos .....	104
2.2.2 Métodos univariantes no-paramétricos .....	106
2.2.3 Métodos multivariantes .....	107
3. RESULTADOS .....	110
3.1 Análisis de la regresión conjunta.....	110
3.2 Varianza de estabilidad de Shukla .....	115
3.3 Consistencia del comportamiento.....	116
3.4 Análisis AMMI.....	120
4. DISCUSIÓN .....	128
CAPITULO 5.....	129
1. INTRODUCCIÓN .....	131
2. MATERIAL Y MÉTODOS .....	140
2.1 Caracteres medidos.....	140
2.2 Análisis estadístico.....	147
2.2.1 Calculo de la ETo.....	147
2.2.2 Análisis de la Varianza.....	147
2.2.3 Efecto del año y régimen hídrico sobre los caracteres estudiados.....	148
2.2.4 Estudio de la relación entre el rendimiento y los otros caracteres.....	148
3. RESULTADOS.....	149
3.1 Caracterización climática de los ensayos.....	151
3.2 Análisis de la varianza.....	157
3.3 Efecto del año y régimen hídrico sobre los distintos parámetros estudiados .....	157
3.4 Relación del rendimiento con los caracteres morfofisiológicos y fenológicos .....	160
3.4.1 Estudio por correlación .....	160
3.4.2 Análisis por coeficientes de sendero .....	162
4. DISCUSIÓN .....	164
DISCUSIÓN GENERAL.....	175

CONCLUSIONES.....185  
REFERENCIAS.....191

## RESUMEN

El trigo duro se cultiva en muchas regiones del mundo. Su importancia reside en ser una fuente principal para la alimentación tanto humana como animal. En España, la superficie dedicada al trigo duro ha crecido de forma espectacular en los últimos años, pasando de 109.400 Ha en 1998 a 874.192 Ha en 2000. Este rápido incremento obedece a las subvenciones comunitarias para la producción de esta especie en las zonas de cultivo tradicional. En el área Mediterránea, el rendimiento del trigo se caracteriza por importantes fluctuaciones del rendimiento, debido normalmente a la duración, frecuencia e intensidad de estreses impredecibles de tipo abiótico (sequía, frío y calor). Sin embargo, estas condiciones pueden favorecer una buena calidad tecnológica del grano.

El material vegetal utilizado en este estudio ha consistido en 10 genotipos de trigo duro (*Triticum durum* Desf.), incluyendo 4 variedades comerciales españolas y 6 líneas avanzadas de la *Durum Core Collection* de ICARDA. Estos genotipos se han estudiado durante los años 1998, 99 y 2000 en dos ambientes (secano y regadío) de la provincia de Granada y en Jerez de la Frontera (bajo condiciones de secano), utilizando un diseño experimental de bloques al azar con 4 repeticiones. Los caracteres estudiados han sido el rendimiento y sus componentes; el contenido en proteína; los parámetros de calidad tecnológica más importantes; el crecimiento del grano; y varios criterios morfofisiológicos de interés para la mejora del trigo duro para resistencia a la sequía. Para analizar los resultados se han utilizado diversas aproximaciones estadísticas, incluyendo AMMI, análisis por componentes principales, métodos univariantes paramétricos (varianza de Shukla) y no-paramétricos (método de Ketata de la consistencia del comportamiento) y análisis por coeficientes de sendero.

Los resultados indican que la relación entre el rendimiento en grano y el contenido en proteína fue negativa, ajustándose mejor a una ecuación asintótica, en lugar de a la conocida regresión lineal. Ello sugiere que aumentos en el rendimiento en grano por encima de un cierto nivel bajo condiciones favorables no disminuyen el contenido en proteína, lo que permite concluir que es posible mejorar los dos caracteres de forma simultánea. Los ambientes de secano permitieron la obtención de buenos valores para la mayoría de los parámetros de calidad. Los genotipos estudiados mostraron buenos niveles de calidad para todos los parámetros, con la única excepción del contenido en pigmentos. La sequía provocó la reducción del peso final del grano y de la duración del llenado, mientras que aumentó la tasa de acumulación de los carbohidratos en el grano. En los ambientes que reducen la tasa del llenado del grano, la duración del mismo determina mayoritariamente el peso del grano. En los ambientes que acortan la duración del llenado, la velocidad de translocación de asimilados hacia el grano parece determinante de su peso final. El análisis multivariante AMMI explicó gran parte de la interacción  $G \times E$ , que se acumuló mayoritariamente en el primer eje de componentes principales (cerca de la mitad de la suma de cuadrados de la interacción). La fuerte interacción año  $\times$  ambiente encontrada en nuestro estudio, dificultó definir patrones de adaptación desde el punto de vista agronómico y ambiental. La variedad comercial española Altar-aos fue la mejor dentro del conjunto de genotipos estudiados y reunió buenas propiedades, tanto de rendimiento como de calidad, presentando además

una elevada estabilidad para ambos caracteres. El contenido en clorofilas aparece como un carácter prometedor en la selección para la resistencia a la sequía, debido a su estrecha relación con el rendimiento y a la alta heredabilidad encontrada en nuestro estudio. La fluorescencia rápida de la clorofila parece una herramienta útil de selección, especialmente bajo las condiciones favorables del cultivo. La depresión de la temperatura de la cubierta vegetal en antesis estuvo negativamente relacionada con el rendimiento, tanto en regadío como en secano. La relación entre la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ) y el rendimiento en grano ha sido significativa sólo bajo las condiciones favorables del regadío y relativamente elevada, aunque no significativa, en Jerez. Por tanto,  $\Delta$  puede ser recomendado como criterio de selección más bien bajo condiciones favorables.



## SUMMARY

Durum wheat is cultivated in many regions of the world because is one of the most important food sources for animal and human consumption. In Spain, the area dedicated to durum wheat has significantly increased in the last years, passing from 109.400 Has in 1988 to 874.192 in 2000. This increment has been due to the communal subsidies for the production of this specie in the traditional growing areas in Spain. In the Mediterranean basin, durum wheat yields are characterized by important fluctuations, mainly due to the duration, frequency and intensity of unpredictable abiotic stresses (drought, cold and high temperatures). Nevertheless, these conditions could favour the production of grains with good technological quality.

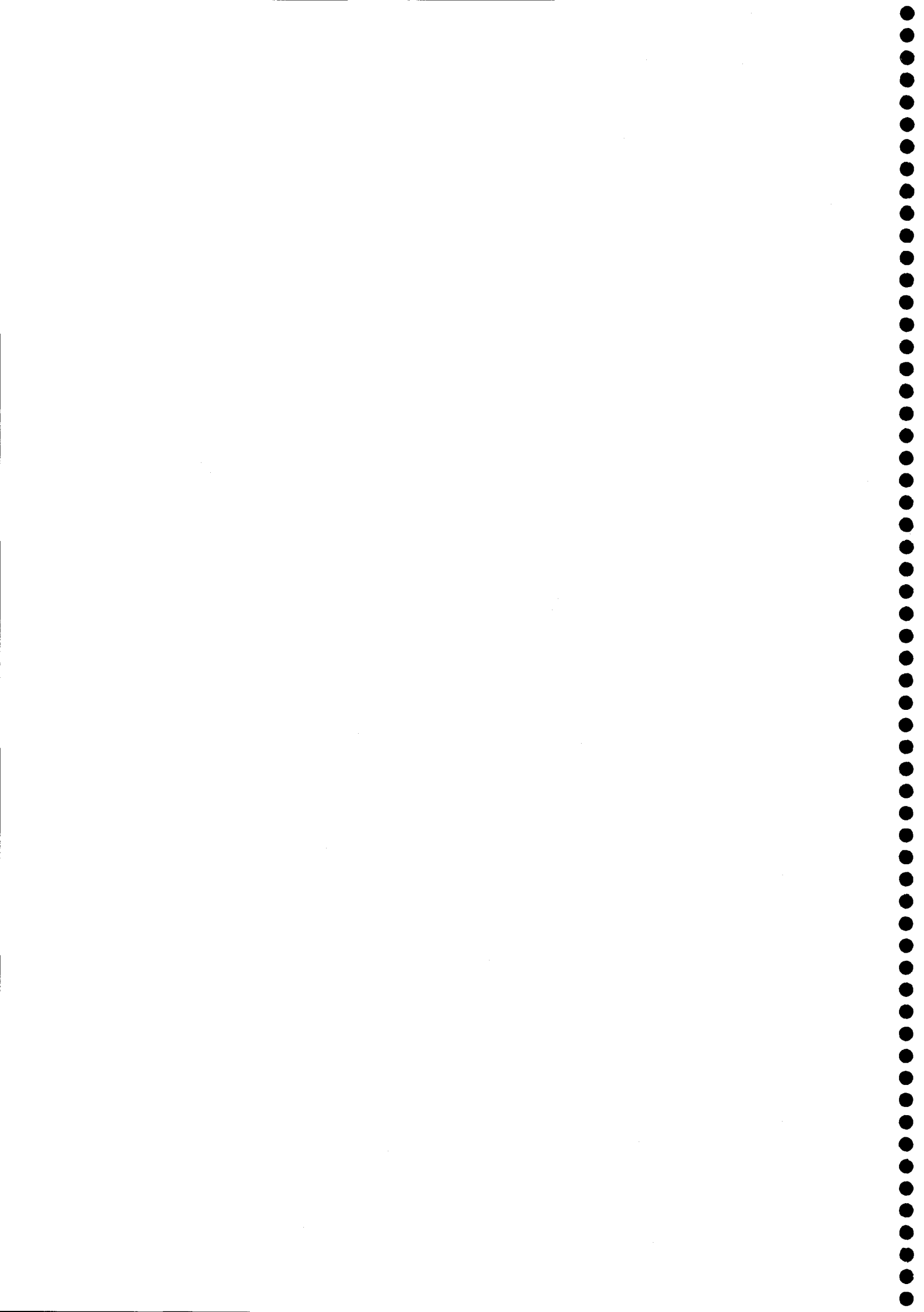
Plant material has consisted of 10 durum wheat genotypes (*Triticum durum* Desf.), including 4 Spanish commercial varieties and 6 advanced lines of the *Durum Core Collection* from ICARDA. These genotypes has been studied during the years 1998, 1999 and 2000 in two environments (under rainfed and irrigated conditions) of the province of Granada and in Jerez de la Frontera (under rainfed conditions), using a randomised complete block design with 4 replications. The characters studied included yield and yield components; protein content; the main quality parameters; grain growth; and several morphophysiological traits of interest in durum wheat breeding for drought resistance. Different statistical approaches have been used to analyse the data, including AMMI; principal components analysis; path-coefficients analysis; parametric univariant methods (Shukla's stability variance); and no-parametric methods (Ketata's performance consistency).

Results indicate a negative relationship between grain yield and protein content. Data fitted better to an asymptotic equation, instead of to the well-known lineal regression, suggesting that yield improvements in fertile environments may be attained with negligible reductions in protein content, given thus the possibility of a simultaneous breeding for the two characters. Rainfed environments allowed good values for most quality parameters. The genotypes studied showed acceptable levels of quality for all the parameters, with the only exception of the pigment content. Drought caused a reduction of final grain weight and grain filling duration, while increased the carbohydrates accumulation rate in the grain. In environments that reduce the rate of grain filling, the duration of grain growth mainly determines final grain weight. In environments that shorten the duration of grain filling, the translocation rate of assimilates toward the grain seems crucial in determining its final weight. The AMMI analysis explained great part of the interaction  $G \times E$ , which mostly accumulated in the first PCA axis (near half of the sum of squares of the interaction). The strong interaction year  $\times$  environment found in our study hindered the definition patterns of adaptation of the studied genotypes from the agronomic and environmental point of view. The Spanish commercial variety Altar-aos was the best among the group of genotypes and gathered good properties, both for grain yield and quality traits, and presented also a high stability for all characters. The chlorophyll content appears as a promising trait in selection for drought resistance, due to its strong relationship with yield and to its high broad-sense heritability found in our study. The chlorophyll fluorescence seems a useful tool of selection, especially under favourable growing conditions. Canopy temperature

depression at anthesis was negatively related to yield, both in irrigated and rainfed trials. Relationship of  $^{13}\text{C}$  carbon isotope discrimination ( $\Delta$ ) with yield has been significant only under irrigated conditions and relatively high, although not significant, in Jerez. Therefore,  $\Delta$  can be recommended also as selection criterion under favourable conditions



# **INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS**



## 1. Importancia del trigo duro a escala mundial

El trigo duro se cultiva en muchas regiones del mundo. Su importancia reside en ser una fuente principal para la alimentación tanto humana como animal, así como por su gran variabilidad genética y plasticidad fenotípica (Slafer y Rawson, 1994). El trigo duro se cultiva desde latitudes de 60° N en Europa hasta 45° S en América y en un rango altitudinal desde pocos metros hasta más de 3000 m sobre el nivel del mar.

**Tabla I.** Superficie, rendimiento y producción del trigo duro en los países más productores en el mundo. Los datos corresponden a la media del periodo 1987-1996.

	Superficie (1000 ha)	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )	Producción (1000 t)
Argelia	1077	0,90	977
Marruecos	1127	1,29	1482
Siria	694	2,47	1814
Túnez	663	1,23	887
Turquía	2955	1,52	4500
WANA	6516	1,48	9660
EE.UU.	1242	2,07	2559
Canadá	2067	1,94	3931
Italia	1660	2,49	4090
España	407	2,27	800
Grecia	571	2,58	1451
<b>Mundo</b>	<b>17480</b>	<b>1,68</b>	<b>29451</b>

Fuente: Belaid, 2000

La superficie dedicada al cultivo del trigo duro en el mundo se estima alrededor de 17-18 millones de hectáreas, es decir el 8% de la superficie total de trigo. La producción mundial anual de este cultivo promedia los 30 millones de toneladas (5,5% de la producción total de trigo). Aunque el trigo duro se cultiva en varias regiones del mundo, la mayor parte en superficie y producción se concentra en América del norte (19% de superficie y 22% de producción) y la cuenca mediterránea (52% de superficie y 54% de producción) (tabla I). En la zona mediterránea, 5 países (Argelia, Marruecos,

Siria, Túnez y Turquía) de la zona denominada WANA (West Asia North Africa), reúnen el 53 y 60% de superficie y producción, respectivamente.

Los rendimientos son más altos en los países desarrollados debido al uso de las altas tecnologías para el manejo del cultivo, cosa que no se presenta en los países en vía de desarrollo (los de WANA), resultando en rendimientos más bajos (tabla I).

## 2. Importancia del trigo duro en España

En España, la superficie dedicada al trigo duro ha crecido de forma espectacular en los últimos años, pasando de 109.400 Ha en 1998 a 874.192 Ha en 2000 (AETC, 1988, 2000) (figura I). Este rápido incremento obedece a las subvenciones comunitarias para la producción de esta especie en las zonas de cultivo tradicional. Una idea de la importancia de dichas ayudas la da la cifra percibida por los agricultores en las últimas campañas, que ha estado alrededor de los 36.000 millones de pesetas anuales solamente en concepto de subvenciones directas de la CEE. Esta situación ha provocado un aumento de actividad en los sectores implicados. En particular existe en este momento una gran demanda de variedades de trigo duro adaptadas a las condiciones agroclimáticas españolas.

Como se observa en la figura II, el cultivo de trigo duro se concentra mayoritariamente en Andalucía y el valle de Ebro, representando más del 80% de la superficie y producción nacionales. Las variedades más cultivadas durante el periodo 1994-2000 han sido Vitrón (14,3%), Nuño (11,9%), Don Pedro (11,8), Simeto (10,1), Jabato (9,4), Antón (7,5), Mexa (7,4) y Gallareta (6,9).

En cuanto a la calidad del trigo duro en España, la mayoría de las variedades cultivadas muestran valores aceptables para todos los parámetros de calidad, debido a que el clima mediterráneo permite la producción de trigos con buena calidad (Borghetti *et al.*, 1997). Sin embargo, existe una considerable fluctuación interanual en algunos parámetros de calidad, tales como el contenido en proteína, la vitrosidad, el peso hectolítrico y el peso de mil granos; parámetros de gran importancia en el mercado de

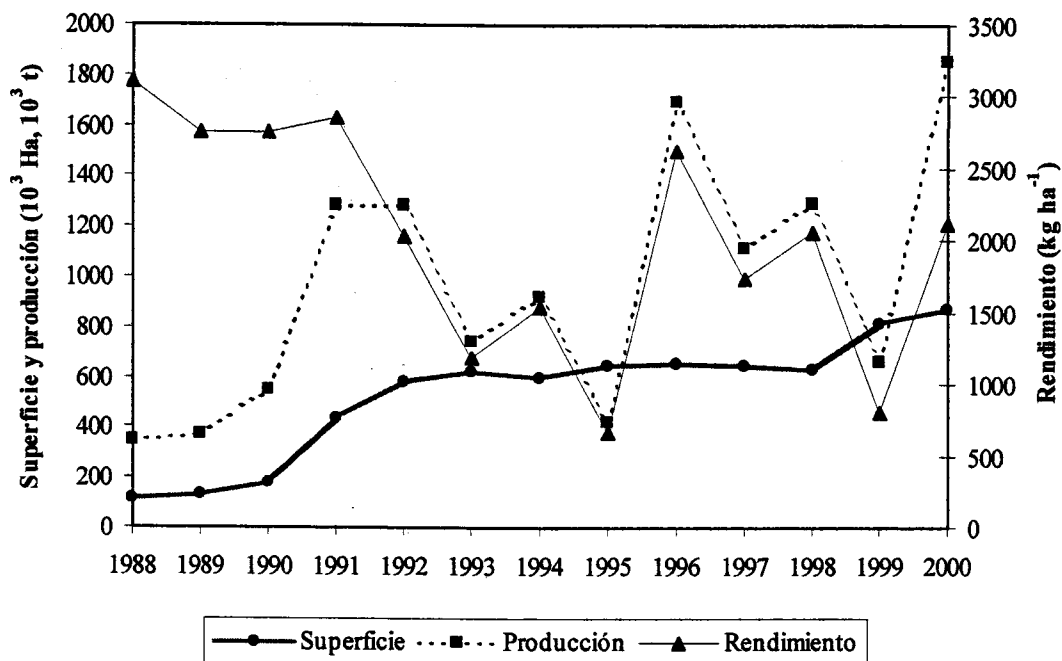


Figura I. Evolución de la superficie, producción y rendimiento de trigo duro en España. (Fuente: AETC)

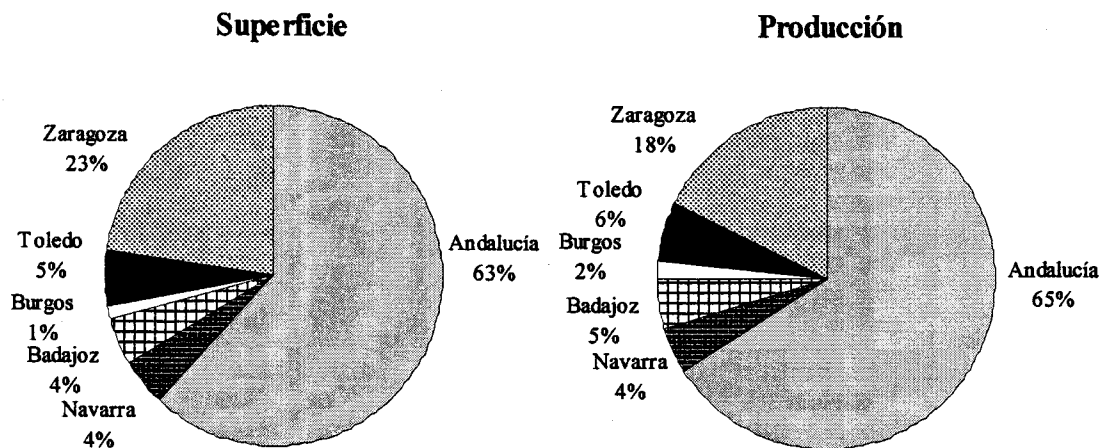


Figura II. Distribución de la superficie y producción del trigo duro en diferentes zonas de España. Datos correspondientes al periodo 1994-2000. (Fuente: AETC)

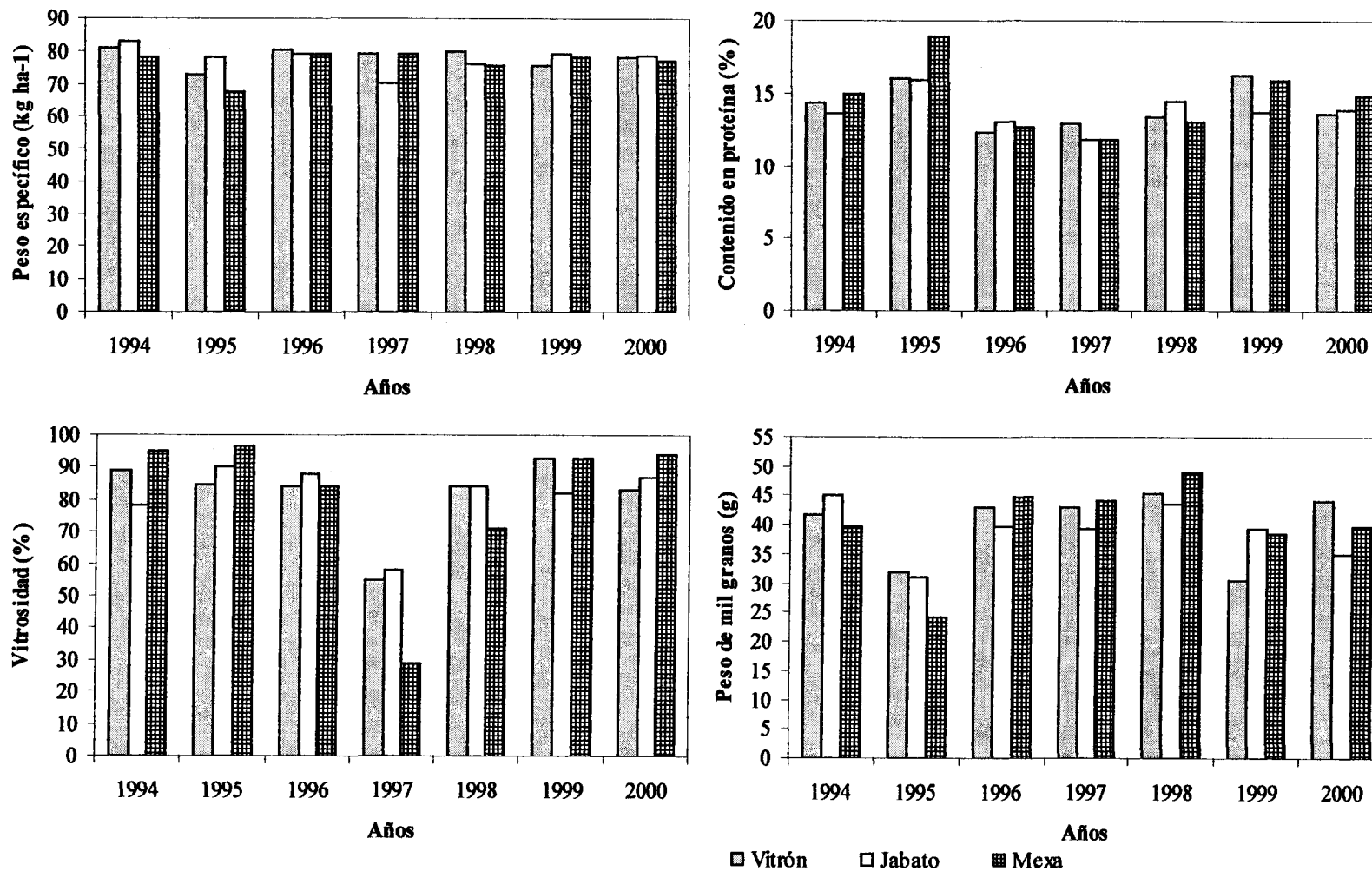


Figura III. Variación interanual de algunos parámetros de calidad en tres variedades comerciales españolas. (Fuente: AETC)



trigo duro. Esto se manifiesta claramente en la figura III, donde se presenta la evolución interanual de la calidad de las variedades comerciales Vitron, Jabato y Mexa en el periodo 1994-2000 (AETC, 1994-2000).

### 3. Principales limitaciones del cultivo de trigo duro en la área mediterránea

El 95% del trigo duro se produce en España en los secanos de Andalucía, Aragón y Extremadura. Como ocurre en toda el área Mediterránea, los secanos se caracterizan por importantes fluctuaciones del rendimiento, debido normalmente a la duración, frecuencia e intensidad de estreses impredecibles de tipo abiótico (sequía, frío y calor) (Nachit *et al.*, 1992b). La sequía es, sin duda, el elemento que más condiciona la producción en los secanos (Royo *et al.*, 1998). Ello se ilustra en la figura I, donde se observa que la producción de trigo duro en España en 1995, uno de los años más secos del siglo, fue de 423.100 t (660 kg ha<sup>-1</sup>), mientras que al año siguiente, bastante más favorable climatológicamente, fue de 1.705.300 t (2.630 kg ha<sup>-1</sup>) (AETC, 1998). Ello implica que las variaciones del rendimiento han oscilado en los últimos años hasta en un 400%, determinando grandes oscilaciones en la producción total (figura I).

En general, la unión europea, incluyendo a España, ha sufrido una disminución de producción de trigo duro durante los cuatro últimos años (Morancho, 2000), lo que ha conducido a la importación de, aproximadamente, un millón de toneladas por año desde EE.UU., Canadá y Méjico. Esta importación se debió, en parte, también a problemas de calidad, que provocaron la venta de una gran parte de la producción de trigo duro para alimentación animal. Esta reducción registrada en la producción de trigo duro en los países de la unión europea se debe, por una parte, a la sequía que afecta a la zona mediterránea y en particular al sur de España, exportador principal a los demás países de la unión europea; y, por otra, a la incertidumbre en el nivel de producción, que obliga a los agricultores a no invertir mucho en el tratamiento del cultivo y, especialmente, en el abono nitrogenado, lo que produce granos con bajo contenido en proteína.

Si bien el déficit hídrico puede afectar al cultivo durante todas las fases de su ciclo, este suele hacerse agudo a partir de la antesis (Edmeades *et al.*, 1989), lo que se ha dado en llamar sequía terminal (Loss y Siddique, 1994). Los daños causados por el estrés en la planta dependen de la intensidad del mismo; el momento en que aparece; su duración; el estado vegetativo y el genotipo (Jones y Qualset, 1984). La planta suele responder mediante una secuencia de cambios en su morfología y fisiología. La adaptación al estrés se manifiesta en la planta a cuatro niveles: desarrollo, morfológico, fisiológico y metabólico.

#### 4. Taxonomía y desarrollo de la planta de trigo

##### 4.1. Taxonomía : Origen y clasificación

Según los estudios de Vavilov, las especies del género *Triticum* han tenido su centro de diferenciación en Turquía, Afganistán e India. Otras investigaciones más recientes afirman que el trigo tuvo su origen en la zona situada en Asia Menor y Afganistán (López Bellido, 1991). El trigo pertenece al orden Graminales, familia Gramíneas (Poaceas), subfamilia *Festucoideae*, tribu *Triticaceae* (*Hordeae*), género *Triticum*. Este comprende alrededor de 30 tipos de trigo que tienen suficientes diferencias genéticas como para ser consideradas especies distintas o subespecies. De ellos, aproximadamente la mitad se han cultivado o se cultivan en alguna parte del mundo y el resto son silvestres.

La primera clasificación de los trigos fue realizada por Linneo en 1753. Sakamura en 1918, y otros investigadores después, concluyeron que los trigos cultivados constituyen series aloploidoides, que van desde los diploides (genoma AA,  $2n = 14$ ) pasando por los tetraploides (genoma AABB,  $2n = 28$ ) hasta los hexaploides (genoma AABBDD,  $2n = 42$ ) (López Bellido, 1991; Kimber y Sears, 1987). Se piensa que un ancestral diploide, se diferenció primero en varios otros diploides, incluyendo al trigo diploide (con el genoma A). En una segunda etapa, algunas especies (con el genoma B), cuyos cromosomas se cree que se han diferenciado mucho en estructura de aquellos del genoma A, se combinaron con el genoma A para formar un trigo

tetraploide. De una forma similar, un genoma D, presumiblemente altamente diferenciado, se añadió al tetraploide AABB para formar el trigo hexaploide AABBDD (Kimber y Sears, 1987). En la tabla II se presentan algunas de las especies cultivadas y silvestres del trigo.

Tabla II. Clasificación y distribución de algunas especies del género *Triticum*.

Especie	Genoma	Nombre común	Distribución
<b>Diploides</b>			
<i>T. monococcum</i> var. <i>boeoticum</i>	AA	Einkorn silvestre	Sudoeste asiático, Balcanes
<i>T. monococcum</i> var. <i>monococcum</i>	AA	Einkorn cultivado, Escaña	Sudoeste asiático
<i>T. tauschii</i>	DD	cc	Sudoeste asiático, Asia central
<i>T. speltoides</i>	SS	cc	Sudoeste asiático
<i>T. umbellatum</i>	UU	cc	Sudoeste asiático
<b>Tetraploides</b>			
<i>T. turgidum</i> var. <i>dicoccoides</i>	AABB	Emmer silvestre	Sudoeste asiático
<i>T. turgidum</i> var. <i>dicoccum</i>	AABB	Emmer cultivado, Escaña almidonera	Sudoeste asiático
<i>T. turgidum</i> var. <i>Durum</i>	AABB	Trigo duro	Sudoeste asiático, Asia central, Turquía, Africa septentrional, S. de Europa, EEUU, Canadá
<i>T. turgidum</i> var. <i>turgidum</i>	AABB	Trigo redondillo	S. de Europa, Africa Septentrional
<i>T. timopheevii araraticum</i>	AAGG	cc	Sudoeste asiático
<i>T. ventricosum</i>	DDMM	cc	S. de Europa, Africa septentrional
<b>HEXAPLOIDES</b>			
<i>T. aestivum</i> var. <i>aestivum</i>	AABBDD	Trigo harinero.	Todo el mundo
<i>T. aestivum</i>	AABBDD	Trigo ramificado	Sudoeste asiático, S. de Europa, EE.UU.
<i>T. aestivum</i> var. <i>compactum</i>	AABBDD	Trigo perdigón.	India
<i>T. syriacum</i>	DDMMSS	cc	Sudoeste asiático

Fuente: López Bellido, 1991.

#### 4.2. Desarrollo de la planta de trigo

El desarrollo de un cultivo se define como la secuencia de los acontecimientos fenológicos controlados por los factores externos y que determinan los cambios morfológicos y funcionales de algunos órganos (Landsberg, 1977). El conocimiento del desarrollo de la planta puede facilitar y ayudar a explicar los aspectos relacionados con

la producción, así como a predecir el impacto de los estreses ambientales sobre la cosecha.

El desarrollo del cultivo de trigo es una continuidad de periodos vegetativo, reproductivo, y de llenado del grano, durante los cuales la planta inicia y desarrolla sus órganos, y completa su ciclo vital. El periodo vegetativo se inicia con la germinación de la semilla como respuesta a su imbibición. Las condiciones necesarias para la germinación se encuentran, generalmente, entre 4 y 37 °C, con un óptimo situado entre 20 y 25°C, y una humedad mínima de 35-45% del peso del grano (Evans, 1983). Finalizada la germinación, las raíces seminales se extienden en el suelo para que la plántula pueda alimentarse, mientras que el coleóptilo se dirige a la superficie después de haber terminado su crecimiento debajo del suelo. La emergencia de la plántula se considera frecuentemente como la aparición de la primera hoja encima del coleóptilo. Durante este periodo de tiempo, se inician muchas yemas florales sobre el ápice, dando lugar después a la aparición de las hojas. La tasa de aparición floral está influida por factores tanto genéticos como ambientales (Miralles y Slafer, 1999). La temperatura es el factor principal que condiciona el filocrono en trigo, aunque parece ser que la respuesta al fotoperíodo tiene un efecto adicional.

En ausencia de cualquier limitación en la disponibilidad de asimilados, la aparición de tallos (o lo que se denomina "ahijamiento") está estrechamente relacionada con la emergencia de las hojas, es decir, el primer tallo hijo aparece coincidiendo con la emergencia de la cuarta hoja. A medida que progresa el ahijamiento, el crecimiento de las yemas diferenciadas da lugar a la aparición de los tallos de la segunda, tercera y cuarta hojas, sucesivamente. Paralelamente se inicia también la diferenciación de las raíces secundarias. Todos estos tallos se llaman primarios, a partir de los cuales, por el mismo proceso, pueden surgir tallos secundarios y terciarios, siguiendo la misma secuencia de producción y ordenación de los tallos. La mayoría de los cultivos de trigo se desarrollan en condiciones óptimas sólo durante un corto periodo al inicio del ciclo, por lo que esta relación entre el filocrono y la aparición de los tallos es válida sólo en esta etapa. Inmediatamente después de que los recursos energéticos empiezan a ser limitantes, no todos los tallos iniciados emergen, y la tasa de aparición de las hojas se

reduce. Cuando los asimilados empiezan a ser aún más limitantes, termina la iniciación de nuevos tallos y algunos de ellos mueren. Un buen nivel de ahijamiento es un carácter deseable en ambientes secos, ya que las variedades con alto y poco variable número de tallos hijos por unidad de área tienden a poseer una gran cosecha de grano (Ramos *et al.*, 1982 y Hadjichristodoulou, 1985). Un ahijado excesivo es indeseable para obtener máximos rendimientos, ya que los tallos y las espigas compiten entre sí cuando el cultivo es demasiado denso y el nivel de otros componentes disminuye (López Bellido, 1991). De hecho, bajo condiciones mediterráneas una elevada producción de tallos al finalizar el ahijado determina una gran mortalidad de los mismos durante la fase de encañado (García del Moral y García del Moral, 1995).

La mortalidad de los tallos coincide generalmente con el inicio del encañado. Esto refleja, probablemente, un incremento significativo en la demanda de los asimilados y nutrientes por los entrenudos vegetativos que se alargan. Cuando las condiciones climáticas son favorables (satisfacen las necesidades de vernalización y fotoperiodo de la planta), los entrenudos empiezan a crecer en longitud, desarrollándose en cada nudo una hoja. Las vainas foliares se alargan y, por reabsorción del tejido central, del entrenudo aparece la cavidad medular. Posteriormente, el crecimiento del tallo se produce a partir del meristemo intercalar (nudo), y el entrenudo se alarga solamente cuando la hoja que se inserta encima de él ha terminado su crecimiento. Los entrenudos van aumentando su longitud hacia el extremo del tallo, de manera que el último entrenudo puede llegar a representar la mitad de la longitud del tallo, y los inferiores estar comprimidos en unos pocos milímetros de tallo.

Al mismo tiempo que el tallo se alarga, la yema terminal o ápice modifica totalmente su función, pasando de simple yema vegetativa a ser el esbozo de la inflorescencia, en la que se van a diferenciar sucesivamente todas las partes y órganos de la futura espiga, es decir, se cambia del simple crecimiento vegetativo al proceso de desarrollo reproductivo (García del Moral y Ramos, 1989; López Bellido, 1991). La emergencia de la espiga comienza cuando la espiguilla terminal puede verse por encima de la hoja bandera, considerándose que se ha completado, es decir, que la espiga ha aparecido totalmente, cuando la espiguilla basal sobrepasa dicha hoja (Zadoks *et al.*,

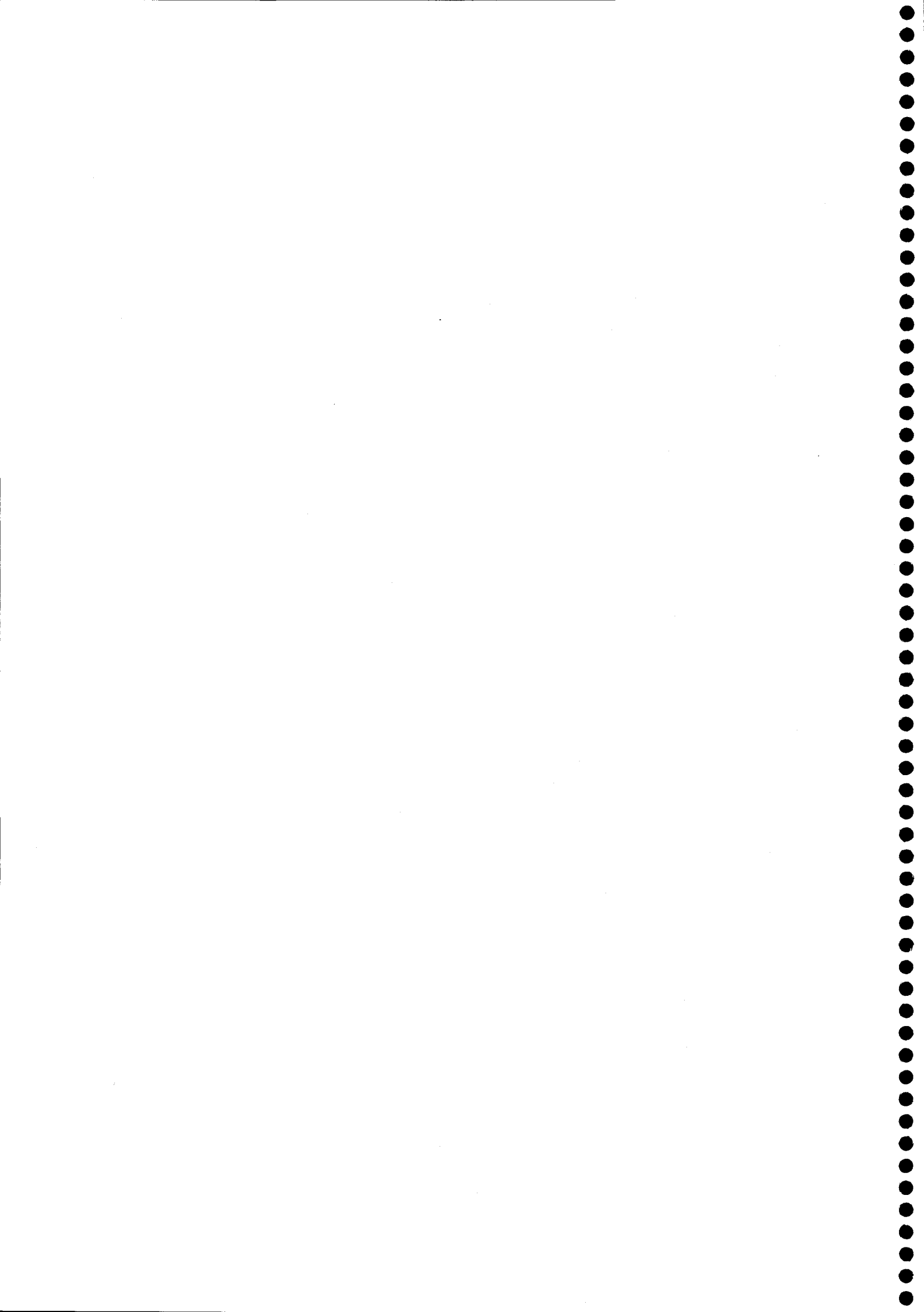
1974). La floración se manifiesta con la aparición de las anteras amarillas fuera de las espiguillas, primero en la parte central de la espiga y luego en los dos extremos; en este momento se considera que tiene lugar la floración completa del trigo (Zadoks *et al.*, 1974). La floración, que dura unos pocos minutos, comienza en las espiguillas centrales y continúa hacia ambos extremos de la espiga (Simmons, 1987). A nivel del cultivo, el espigado tiene lugar cuando el 50% de los tallos han superado la situación anterior, concluyendo a los pocos días. Las altas temperaturas y la sequía afectan negativamente a la formación de los órganos reproductores, induciendo esterilidad del polen. El rendimiento de grano es particularmente reducido en estos casos, no sólo durante el periodo de formación del polen, sino también durante la antesis y la fecundación.

Después de la antesis ocurre la fecundación que da lugar a la formación del grano. Este periodo se caracteriza por un periodo de latencia donde el grano acumula lentamente la biomasa seca en un porcentaje de 5 a 10% de su peso final (Loss *et al.*, 1989). Durante esta fase, que representa del 20 al 30% del periodo antesis-madurez (Gebeyehou *et al.*, 1982), se forma la mayor parte de las células del endospermo, que determinan la máxima capacidad de sumidero que puede tener el grano. Después del periodo de latencia, el crecimiento del grano se acelera progresivamente hasta alcanzar su tasa máxima. Durante este periodo, el peso del grano crece linealmente respecto al tiempo térmico. Hacia el final de esta fase el crecimiento del grano se reduce, alcanzando su máximo peso seco en el momento de la madurez fisiológica. Posteriormente, el grano pierde agua llegando a la madurez comercial cuando el contenido de humedad se sitúa entre el 8-12%, dependiendo de las condiciones de maduración.

## **OBJETIVOS**

A continuación se enumeran los objetivos generales del presente trabajo. No obstante, en cada uno de los capítulos también se incluyen una serie de objetivos específicos a los que se dirigen cada uno de los apartados que constituyen esta Memoria de Tesis Doctoral.

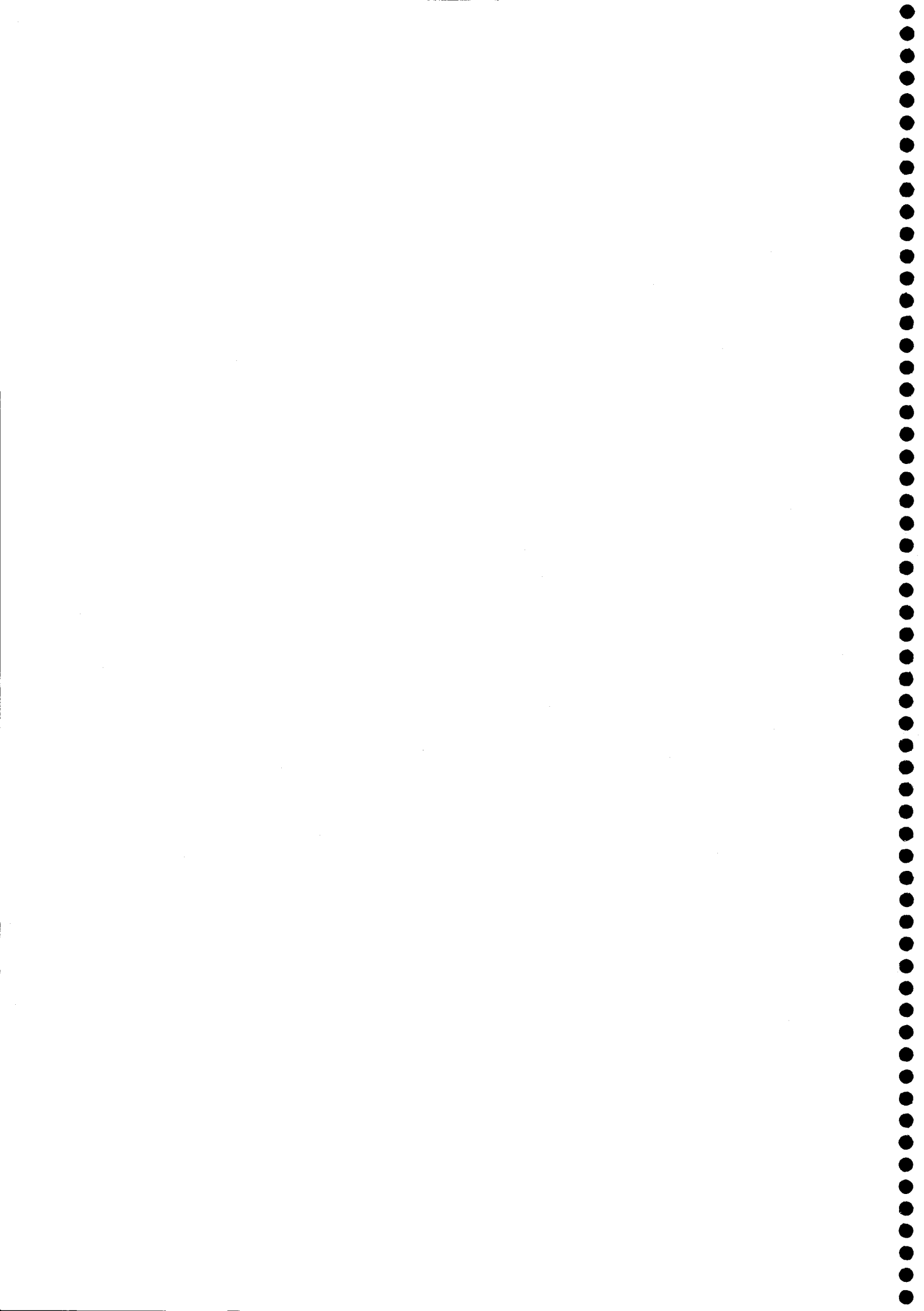
- (i) Cuantificar el grado de influencia de los efectos genotípico y ambiental, así como de la interacción genotipo  $\times$  ambiente, sobre el rendimiento, contenido en proteína, parámetros de llenado del grano, caracteres morfofisiológicos y factores de calidad.
- (ii) Estudiar la relación entre el rendimiento en grano y el contenido en proteína bajo los distintos regímenes hídricos utilizados.
- (iii) Modelizar el crecimiento del grano en los ambientes de secano y regadío y estudiar su relación con el rendimiento y el contenido en proteína.
- (iv) Determinar los patrones de estabilidad de los 10 genotipos estudiados.
- (v) Analizar la relación del rendimiento en grano con los caracteres morfofisiológicos estudiados, con el propósito de identificar aquellos más prometedores para la mejora del rendimiento bajo condiciones mediterráneas







# CAPÍTULO 1



## 1. INTRODUCCIÓN

Desde que el hombre empezó a seleccionar trigos para su agricultura doméstica y desde que se iniciaron los primeros programas de mejora genética a comienzos del siglo pasado, la producción de grano por unidad de superficie ha sido siempre el objetivo más importante, si no el único, de los programas convencionales de mejora genética de trigos. Así, el rendimiento en condiciones favorables de cultivo ha aumentado muy significativamente en los últimos 50 años. La utilización simultánea de variedades mejoradas, con técnicas culturales más adecuadas, ha permitido unos incrementos espectaculares en la producción (Romagosa y Araus, 1991a).

Mucha de la ganancia genética conseguida en el rendimiento se ha basado sobre la definición de Donald y Hamblin (1976) del rendimiento en grano como el producto de la producción de biomasa y el índice de cosecha. La biomasa por unidad de superficie puede incrementarse gracias a las prácticas agronómicas (siembra temprana, alta densidad de siembra y dosis adecuadas de fertilizantes, especialmente nitrogenados) y por intermedio de la mejora genética. En las zonas favorables de cultivo se ha avanzado mucho en la selección de altos índices de cosecha, sobre todo después de la adopción de los trigos semi-enanos del CIMMYT, lo que ha resultado en elevados rendimientos en grano. Sin embargo, bajo las condiciones de estrés de los ambientes mediterráneos, tal y como afirman Siddique *et al.* (1989) y Hadjichristodolou (1991), la obtención de importantes incrementos en el índice de cosecha es bastante improbable, debido principalmente al déficit hídrico y elevadas temperaturas típicas durante el llenado de los granos.

En los últimos 30 años, el contenido en proteína del grano está adquiriendo cada vez mayor importancia en los programas de selección y mejora de los cereales y especialmente del trigo. Esta importancia viene dada por el destacado valor nutritivo que tiene este parámetro y por su relevancia para la industria panadera y de fabricación de pastas. Los ambientes mediterráneos se caracterizan básicamente por grandes fluctuaciones y la frecuencia impredecible de la duración e intensidad de las lluvias entre y dentro de las campañas agrícolas. En estas áreas, el trigo duro se cultiva

principalmente en seco, lo que determina que el rendimiento sea altamente inestable, mientras que permite la producción de trigos con alta calidad (Borghi *et al.*, 1997).

El contenido en proteína está influido por el ambiente y por el genotipo, siendo la interacción de estos dos factores de menor importancia en magnitud. Así, en un estudio con 24 genotipos de trigo harinero cultivados en 12 ambientes, Baezinger *et al.* (1985) demostraron que el efecto ambiental fue el más importante para muchos parámetros de calidad, incluyendo el contenido en proteína del grano. Los factores ambientales más importantes que afectan al contenido proteico del grano de trigo son: la dosis de fertilizante nitrogenado, el momento de su aplicación y el nitrógeno residual del suelo (Rao *et al.*, 1993).

La principal fuente de proteína del grano la constituye el nitrógeno presente en los tejidos vegetativos de la planta antes del comienzo del llenado del grano. Generalmente, cerca de 2/3 o más de la proteína almacenada en el grano maduro está ya presente en la planta en la antesis, tanto en trigo (Austin *et al.*, 1977; Cox *et al.*, 1985) como en cebada (García del Moral *et al.*, 1985, 1998). La cantidad restante se absorbe desde el suelo durante la fase del desarrollo del grano (Kramer, 1979).

La mejora simultánea del rendimiento en grano y el contenido proteico es una tarea muy difícil, debido a la correlación negativa encontrada a menudo entre estos dos caracteres. Está generalmente bien establecido que cuando el porcentaje de proteína ha sido utilizado como criterio de selección en los programas de mejora genética, los progresos han sido solamente a costa del rendimiento en grano (Jenner *et al.*, 1991). Esta relación negativa está ampliamente argumentada en la literatura y frecuentemente confirmada en los estudios de rendimiento y contenido en proteína del grano en trigo (Peterson *et al.*, 1992; Liu *et al.*, 1995; Boggini *et al.*, 1997; Simmonds, 1995; Novaro *et al.*, 1997; Pleijel *et al.*, 1999; Rharrabti *et al.*, 2000) y triticale (García del Moral *et al.*, 1995). Sin embargo, esto no es una regla general ya que, para un determinado genotipo, la correlación entre el rendimiento en grano y el contenido en proteína puede ser cercana a cero, positiva o negativa, dependiendo del nivel de fertilidad del suelo (Kramer, 1979). De hecho, en algunas líneas de trigo harinero se ha encontrado una alta

concentración de proteínas manteniendo un cierto nivel de rendimiento en grano (Stoddart y Marshall, 1990). Una interesante discusión de las relaciones entre el rendimiento de grano y el contenido en proteína puede encontrarse en la valiosa revisión de Simmonds (1995). Una explicación fisiológica de esta relación sobre una base bioenergética, ha sido sugerida por Penning de Vries *et al.* (1974), quienes estimaron que, en teoría, 1 g de glucosa producido por fotosíntesis puede ser usado por la planta para producir 0,83 g de carbohidratos o 0,40 g de proteína, cuando el nitrato es la fuente de nitrógeno. Esto implica que un aumento del contenido proteico usa más fotoasimilados, lo que reduce los fotoasimilados disponibles para la síntesis de carbohidratos y resulta en una reducción del rendimiento en grano.

En cuanto a la relación entre el contenido en proteína del grano y el índice de cosecha, se comentó previamente en este capítulo que más del 75% del nitrógeno acumulado en el grano en el momento de madurez estaba ya presente en la planta en el momento de la antesis. Esto provoca que cualquier reducción en el contenido de paja relativa a la cantidad de grano o viceversa, conllevaría una disminución en el porcentaje de proteína del grano. En este sentido, Kramer *et al.* (1979) señalaron al índice de cosecha como una de las 4 posibles razones responsables de las diferencias en el contenido proteico de los cultivares de trigo, y concluyeron que la relación entre el contenido en proteínas del grano y el índice de cosecha es muy alta dentro de un mismo cultivar, y que un aumento del 1% en el índice de cosecha conduce a una reducción del 0.35% en el contenido proteico del grano

Muchos estudios han enfocado el efecto de las variables climáticas sobre la deposición de proteínas y carbohidratos en el grano de trigo. Ello se debe a la gran importancia de los factores ambientales sobre la variación observada tanto para el contenido proteico como para el rendimiento en grano. En muchos casos, la concentración del nitrógeno en el grano aumenta con las altas temperaturas y escasa precipitación durante el llenado del grano. La regresión múltiple de la concentración en proteína con las precipitaciones, las temperaturas y la fertilización nitrogenada demuestra que el contenido proteico presenta una correlación positiva con las

temperaturas y lluvias durante el llenado del grano y negativa con las lluvias cerca del momento de la antesis (Gooding et Davies, 1997).

En este contexto, los objetivos de este capítulo han consistido en:

- (i) Determinar la variación genética existente en el rango de las variedades estudiadas y cuantificar el grado de influencia de los factores genotípico y ambiental así como la interacción genotipo  $\times$  ambiente.
- (ii) Estudiar la relación entre el rendimiento en grano y el contenido proteico del grano y el índice de cosecha.
- (iii) Averiguar el efecto de las variables climáticas sobre la deposición de la proteína en el grano.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Material Vegetal

El material vegetal utilizado en este estudio ha consistido en 10 genotipos de trigo duro (*Triticum durum* Desf.) cuyo origen, pedigrí y cruzamiento se recogen en la tabla 1.1. Estos genotipos incluyen 4 variedades comerciales españolas (*Altar-aos*, *Jabato*, *Mexa* y *Vitrón*) y 6 líneas avanzadas (*Awalbit*, *Korifla*, *Lagost-3*, *Omrabi-3*, *Sebah* y *Waha*) de la *Durum Core Collection* del programa de mejora de trigo duro del ICARDA (International Centre for Agricultural Research in Dry Areas).

**Tabla 1.1.** Lista de los genotipos estudiados, origen, pedigrí y cruzamiento.

Genotipo	Origen	Pedigrí	Cruzamiento
Altar-aos	Comercial	—	Altar/Aos
Awalbit	ICARDA	ICD84-0322-ABL-5AP-TR-AP-6AP-0TR	Aw12/Bit

Jabato	Comercial	————	————
Korifla	ICARDA	CD523-3Y-1Y-2M-0Y-0AP	DS15/Geier
Lagost-3	ICARDA	ICD86-0471-ABL-0TR-8AP-0TR-25AP-0TR	Lahn//Gs/Stk
Mexa	Comercial	Mexicali 75 's'	————
Omrabi-3	ICARDA	LO589-4L-2AP-3AP-0AP	Jori c69/Hau
Sebah	ICARDA	ICD86-0041-ABL-13AP-0TR-7AP-0TR	Sbu/Lahn
Vitrón	Comercial	Yavaros 's'	————
Waha	ICARDA	————	————

## 2.2. Descripción de los ensayos

Durante los tres años de este estudio, los ensayos se realizaron bajo dos regímenes hídricos diferentes:

- Un regadío ubicado en el Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA) a 10 Km. de la ciudad de Granada.
- Un secano situado en dos zonas representativas de Andalucía oriental:
  - (i) La finca experimental de Ochíchar a unos 30 Km. de la ciudad de Granada, y
  - (ii) El Centro de Investigación y Formación Agraria-Estación de la Merced en Jerez de la Frontera (Provincia de Cádiz).

La descripción y localización de los ensayos, así como las características del suelo y las prácticas agronómicas en cada ensayo, se presentan en las tablas 1.2 y 1.3, respectivamente. A lo largo de esta memoria, se emplean indistintamente las denominaciones de secano o de Ochíchar, y de regadío o CIFA, en función de que, en el contexto, se haga referencia a disponibilidad hídrica o a localidad.

El diseño experimental utilizado en todos los ensayos fue un diseño de bloques completamente aleatorios con 4 repeticiones. La densidad de siembra se ajustó a 350 semillas m<sup>2</sup>. La superficie de las parcelas fue de 12 m<sup>2</sup> (6 surcos, 20 cm de espacio entre surcos).

**Tabla 1.2.** Descripción y localización de los ensayos.

Ensayo	Régimen Hídrico	Coordenadas	Altitud (m)	Precipitación + riego (mm)			Temperaturas medias del ciclo								
				1998	1999	2000	1998			1999			2000		
							T <sub>max</sub>	T <sub>media</sub>	T <sub>min</sub>	T <sub>max</sub>	T <sub>media</sub>	T <sub>min</sub>	T <sub>max</sub>	T <sub>media</sub>	T <sub>min</sub>
CIFA	Regadío	37°21'N 3°35'O	650	311+50	128+150	203+100	19,5	13,2	6,9	20,7	13,4	6,1	19,5	12,7	5,8
Ochíchar	Secano	37°10'N 3°50'O	720	188	193	152	19,9	13,5	7,0	21,7	13,6	5,6	21,3	13,8	6,2
Jerez	Secano	36°70'N 6°20'O	44	430	202	227	21,0	15,1	9,1	22,3	15,0	7,8	20,6	14,4	8,2

**Tabla 1.3.** Características del suelo y prácticas agronómicas

	CIFA			Ochíchar			Jerez		
<i>Características de Suelo</i>									
Clasificación	Typic Xerofluvent			Loamy Calcixerolic Xerochrept			Vertisol Uderts		
Textura	Franco-limosa			Limo-arcillosa			Arcillosa		
PH	8.0			8.2			7,7		
P (ppm)	50			27			40		
K (ppm)	88			210			155		
Materia orgánica (%)	2,01			1,86			2,50		
<i>Prácticas Agronómicas</i>	1998	1999	2000	1998	1999	2000	1998	1999	2000
Fertilizantes (kg ha <sup>-1</sup> )									
N (abonado+cobertera)	60+20	75+20	60+20	45+20	49+20	52+20	40+91	40+88	40+138
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	60	75	60	45	49	52	63	63	63
K <sub>2</sub> O	60	75	60	45	49	52	40	40	40
Fecha de siembra	11/12/97	15/12/98	23/11/99	12/01/98	25/11/98	10/12/99	11/12/97	9/12/98	26/11/99



### **2.3. Caracteres medidos**

#### *El rendimiento en grano*

Se obtuvo recogiendo con cosechadora de ensayos toda la superficie de las parcelas en todos los experimentos, siendo posteriormente expresado a un nivel de humedad del 12%.

#### *El índice de cosecha*

Se calculó dividiendo el peso de los granos por el peso de biomasa total (grano y paja) en cada parcela.

#### *El contenido en proteína del grano*

Se determinó por el método estándar de Kjeldhal, que consiste en mineralizar la muestra por vía húmeda con ácido sulfúrico concentrado y alcalinizar por medio de solución de hidróxido de sodio. El amoníaco liberado es arrastrado por destilación y recogido sobre ácido bórico. La posterior valoración con ácido clorhídrico permite el cálculo de la cantidad inicialmente presente de nitrógeno en la muestra. El porcentaje de proteína fue calculado después de multiplicar el porcentaje de nitrógeno (determinado por el método Kjeldhal) por 5,7 y expresado sobre una base seca.

### **2.4. Análisis estadístico**

#### *Análisis de la varianza:*

En el modelo utilizado se ha considerado el año y la repetición como factores aleatorios y el ambiente (secano y regadío) y la variedad como factores fijos. Por tanto, el modelo elegido para el análisis de varianza tiene como ecuación general la siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \delta_{l(ij)} + \varepsilon_{kl(ij)} \quad [\text{Ecuación 1}]$$

con:

$\alpha_i$ : efecto principal de año.

$\beta_j$ : efecto principal de ambiente.

$\gamma_k$ : efecto principal de genotipo.

$(\alpha\beta)_{ij}$ : interacción año  $\times$  ambiente.

$(\alpha\gamma)_{ik}$ : interacción año  $\times$  genotipo.

$(\beta\gamma)_{jk}$ : interacción ambiente  $\times$  genotipo.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ : interacción año  $\times$  ambiente  $\times$  genotipo.

$\delta_{l(ij)}$ : efecto de repetición jerarquizado con el efecto de año y de ambiente.

$\varepsilon_{kl(ij)}$ : error experimental.

El test de homogeneidad de varianzas de Bartlett derivado del resultado de los análisis de varianza de cada ensayo no fue significativo, por lo que nos permitió efectuar el análisis combinado de la varianza siguiendo las ecuaciones 1 y 2. Ya que el modelo elegido era aleatorio, el análisis de varianza se efectuó mediante el procedimiento GLM (*General Linear Model*) del paquete estadístico SAS-STAT (SAS Inc., 1997).

#### *Comparación de medias:*

La comparación de medias se realizó entre años, ambientes y genotipos. Para ello, se calcularon los valores de las mínimas diferencias significativas (MDS) a un nivel de probabilidad del 5%.

#### *Análisis de regresión:*

Para estudiar la relación entre el contenido en proteína, el rendimiento en grano y el índice de cosecha se han utilizado técnicas de regresión. La relación entre el contenido en proteína y el rendimiento de grano se ha analizado mediante el programa Table Curve 2D (Jandel Co., 1994), que permite determinar la función matemática que mejor se ajusta a esta relación, utilizando para ello las medias de cada genotipo en cada ensayo ( $n = 90$ ). En cuanto al estudio de la relación contenido en proteína-índice de cosecha, se usaron las medias genotípicas globales y la recta se ajustó a una regresión

lineal mediante el procedimiento REG del paquete estadístico SAS-STAT (SAS Inc., 1997).

*Estudio de la heredabilidad:*

Para este estudio se modificó el modelo de ANOVA, anterior al objeto de agrupar los efectos de año y ambiente en un solo efecto llamado efecto de ensayo. La ecuación lineal del modelo queda, por consiguiente, como:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + e_j + (ge)_{ij} + r_{k(j)} + \varepsilon_{ik(j)} \quad \text{[Ecuación 2]}$$

con:

- $g_i$ : efecto principal del genotipo  $i$ .
- $e_j$ : efecto principal del ensayo  $j$ .
- $(ge)_{ij}$ : interacción del genotipo  $i$  con el ensayo  $j$ .
- $r_{k(j)}$ : efecto de la repetición  $k$  en el ensayo  $j$ .
- $\varepsilon_{ik(j)}$ : error experimental.

El modelo lineal simple de cada ensayo sería:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + r_j + \varepsilon_{ij} \quad \text{[Ecuación 3]}$$

con:

- $g_i$ : efecto principal del genotipo  $i$ .
- $r_j$ : efecto de la repetición  $j$ .
- $\varepsilon_{ij}$ : error experimental.

Este estudio se efectuó para los tres parámetros mencionados y para ello se estimaron los componentes de la varianza para el efecto principal del genotipo ( $\sigma_g^2$ ), la interacción genotipo  $\times$  ambiente ( $\sigma_{ge}^2$ ) y la varianza ponderada del error ( $\sigma_{err}^2$ ), utilizando el procedimiento VARCOMP del paquete estadístico SAS (SAS Inc., 1997) sobre el modelo lineal de la ecuación 2. La heredabilidad en sentido amplio ( $H^2$ ) se calculó mediante la siguiente fórmula (Hallauer y Miranda, 1981):

$$H^2 = \sigma_g^2 / \sigma_g^2 + (\sigma_{ge}^2/q) + (\sigma_{err}^2/qr)$$

donde q = número de ambientes, y r = número de repeticiones.

### *Técnicas de regresión múltiple:*

Con objeto de averiguar la importancia jerárquica de las variables climáticas sobre el contenido en proteína se ha usado el método STEPWISE de regresión múltiple. Para la definición de las variables climáticas, se dividió el ciclo de la planta en tres fases:

- 1º fase: Nascencia y establecimiento del cultivo (desde la siembra hasta final de febrero).
- 2º fase: Ahijamiento y antesis (marzo y abril).
- 3º fase: Llenado del grano y madurez (mayo y junio).

En cada fase se calcularon las medias de las temperaturas mínimas ( $T_{min}$ ) y máximas ( $T_{max}$ ) y las precipitaciones acumuladas (P) durante las fases consideradas.

## **3. RESULTADOS**

### ***3.1. Análisis de Varianza***

Los resultados del análisis de varianza para el rendimiento en grano, el contenido en proteína y el índice de cosecha se presenta en la tabla 1.4.

Para el rendimiento en grano, el efecto del ambiente fue el predominante, explicando el 69,7% de la variación total. El efecto del año también fue relativamente importante aunque no significativo. El factor genotipo tuvo menos influencia sobre el rendimiento (0,5% de la variación total) aunque altamente significativo ( $p < 0,001$ ). Los efectos multiplicativos (interacción genotipo  $\times$  año, genotipo  $\times$  ambiente y genotipo  $\times$

año × ambiente) fueron de muy baja magnitud, siendo la interacción genotipo × año no significativa.

El factor ambiental influyó mucho sobre el contenido en proteína y explicó el 53,3% de la variación total observada. El año determinó también el 34,5% de la varianza, pero sin llegar a ser significativo. El efecto del genotipo, aunque fue muy significativo, presentó escasa influencia sobre el contenido en proteína. Las interacciones genotipo × año, genotipo × ambiente y genotipo × año × ambiente tuvieron menos importancia, ya que explicaron en total solo el 2,6% de la variación observada.

En lo que concierne al índice de cosecha, el ambiente ejerció la mayor influencia, explicando el 81,7% de la varianza. Los efectos del año y del genotipo tuvieron relativamente la misma magnitud (3,8% y 3%, respectivamente). Las interacciones genotipo × año, genotipo × ambiente y genotipo × año × ambiente influyeron muy poco sobre el índice de cosecha.

**Tabla 1.4.** Cuadrados medios del análisis combinado de varianza para el rendimiento en grano, contenido en proteína e índice de cosecha de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	Rendimiento en grano × 10 <sup>5</sup>	Contenido en proteína	gl	Índice de cosecha
Año	2	635,03	55,03	2	0,014
Ambiente	2	2021,05 ***	84,99 ***	2	0,299 ***
Genotipo	9	15,06 ***	4,58 ***	9	0,011 ***
Bloque (Y×E)	27	11,53 ***	0,93	24	0,002 **
Y × E	4	188,03 ***	8,87 ***	3	0,027 ***
Y × G	18	6,57	2,33 *	18	0,004
E × G	18	11,03 ***	0,63	18	0,004 ***
Y × E × G	36	8,47 ***	1,22 *	27	0,004 ***
Error	243	2,30	0,75	216	0,001
Total	359			319	

Y = Año, E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

En general, la misma imagen del análisis de varianza se repite para los tres parámetros estudiados. Parece que las diferencias entre ambientes en lo que se refiere a disponibilidad de agua, fertilidad del suelo y prácticas agronómicas aplicadas, tuvieron su mayor influencia sobre la variación total observada. Entre años no ha existido una diferencia significativa, tanto para el rendimiento en grano como para el contenido en proteína y el índice de cosecha, aunque la fluctuación de los factores climáticos de un año a otro pudiera haber sido la causa del porcentaje, relativamente alto, de la variación explicada. La influencia genotípica, aunque fue altamente significativa, tuvo muy poca importancia, demostrando que el control genético de estos tres caracteres es muy débil en relación con el control ambiental. Por último, las interacciones del genotipo con los factores ambientales (año y ambiente) fueron de muy baja magnitud aunque, en general, altamente significativas (sobre todo la interacción triple genotipo  $\times$  año  $\times$  ambiente).

### ***3.2. Comparación entre medias de años, ambientes y genotipos***

Las medias por año, ambiente y genotipo para el rendimiento en grano, contenido en proteína e índice de cosecha se muestran en la tabla 1.5, así como su comparación por el método de las mínimas diferencias significativas (MDS).

*Años:* El tercer año (2000) de nuestro estudio fue el más productivo en cuanto a rendimiento en grano y con mayor índice de cosecha, pero fue el que presentó menos contenido en proteína. Por otro lado, el año 1998 presentó un rendimiento y un índice de cosecha más bajos en comparación con los dos otros años, pero la concentración en proteína fue mayor. El año 1999 mostró valores intermedios para los tres parámetros estudiados.

*Ambientes:* En cuanto a rendimiento en grano, el ensayo del CIFA de Granada fue el más productivo ya que se desarrolló en condiciones más favorables (regadío), mientras que el ensayo de secano de Granada (Ochíchar) presentó el menor rendimiento en grano. El ensayo de Jerez, aunque se cultivó en condiciones de secano, permitió una producción bastante satisfactoria. El contenido en proteína manifestó una tendencia inversa a la del rendimiento, ya que el secano de Granada con menor rendimiento medio

expresó alto contenido en proteína; sin embargo, el regadío (CIFA) tuvo un contenido en proteína más bajo. Las condiciones de secano en Jerez permitieron unos porcentajes de proteína aceptables. Bajo estas mismas condiciones, el índice de cosecha presentó los mayores valores en comparación con los ensayos de Granada (CIFA y Ochíchar) que mostraron valores muy semejantes.

**Tabla 1.5.** Comparación de medias de años, ambientes y genotipos para el rendimiento en grano, contenido en proteína e índice de cosecha.

	Rendimiento en grano (kg ha <sup>-1</sup> )	Contenido en proteína (%)	Índice de cosecha
<b>Año</b>			
1998	3541 c	13,95 a	0,379 c
1999	3784 b	13,13 b	0,403 b
2000	4905 a	12,60 c	0,425 a
<b>Ambiente</b>			
CIFA (Regadío)	5210 a	12,53 c	0,375 b
Ochíchar (Secano)	2661 c	14,16 a	0,383 b
Jerez (Secano)	4359 b	12,98 b	0,484 a
<b>Genotipo</b>			
Altar-aos	4111 bcd	12,93 e	0,434 a
Awalbit	3956 cd	13,86 a	0,365 f
Jabato	4471 a	13,03 cde	0,412 bc
Korifla	4134 bc	12,94 de	0,407 cde
Lagost-3	4129 bcd	13,34 bcd	0,393 e
Mexa	3911 de	12,86 e	0,405 cde
Omrabi-3	4005 cd	13,41 bc	0,395 de
Sebah	3733 e	13,51 ab	0,408 bcd
Vitrón	4029 cd	12,82 e	0,423 ab
Waha	4291 ab	13,56 ab	0,409 bcd

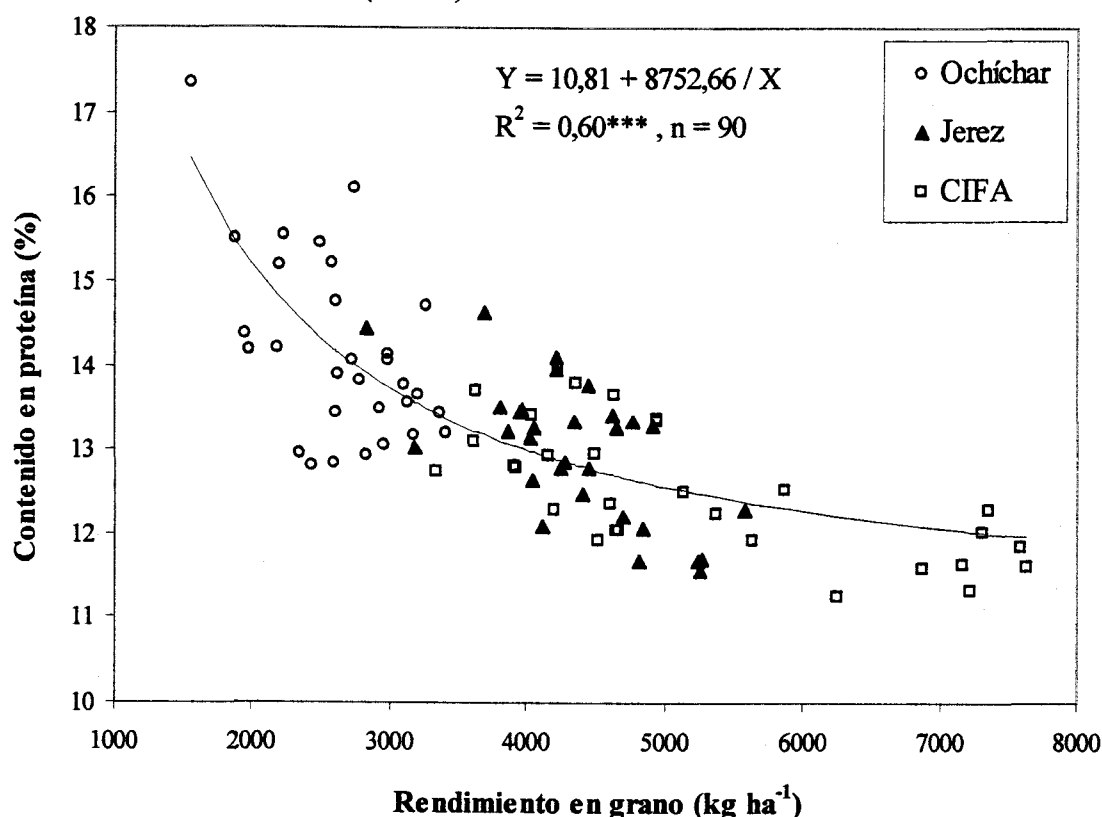
†: Dentro de las columnas y factores, valores con la misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0,05$  según el test de las mínimas diferencias significativas.

**Genotipos:** Existen diferencias significativas entre los genotipos en cuanto a los tres parámetros. El rendimiento más alto se consiguió por la variedad comercial Jabato (4471 kg ha<sup>-1</sup>), mientras que Sebah presentó el rendimiento más bajo (3733 kg ha<sup>-1</sup>). En

cuanto al contenido en proteína, el mayor porcentaje se obtuvo por el genotipo Awalbit (13,86%) y el menor contenido lo tuvo Vitrón con 12,82%. Parece que dentro del material genético estudiado, existen buenas combinaciones de genotipos, es decir, con alto rendimiento en grano y alto contenido en proteína, como los que presentan Jabato, Waha, Lagost-3 y Altar-aos. El rango de variación para el índice de cosecha estuvo entre 0,434 de Altar-aos y 0,365 de Awalbit.

### 3.3. Estudio de la relación rendimiento-proteína

Debido a que en el análisis de varianza (tabla 1.4), los efectos año y ambiente explicaron en conjunto el 91,6 y el 87,9% de la variación total observada para el rendimiento en grano y el contenido en proteína, respectivamente, el estudio de la relación entre estos dos caracteres se hizo sobre los valores medios de las combinaciones año-ambiente (n = 90).



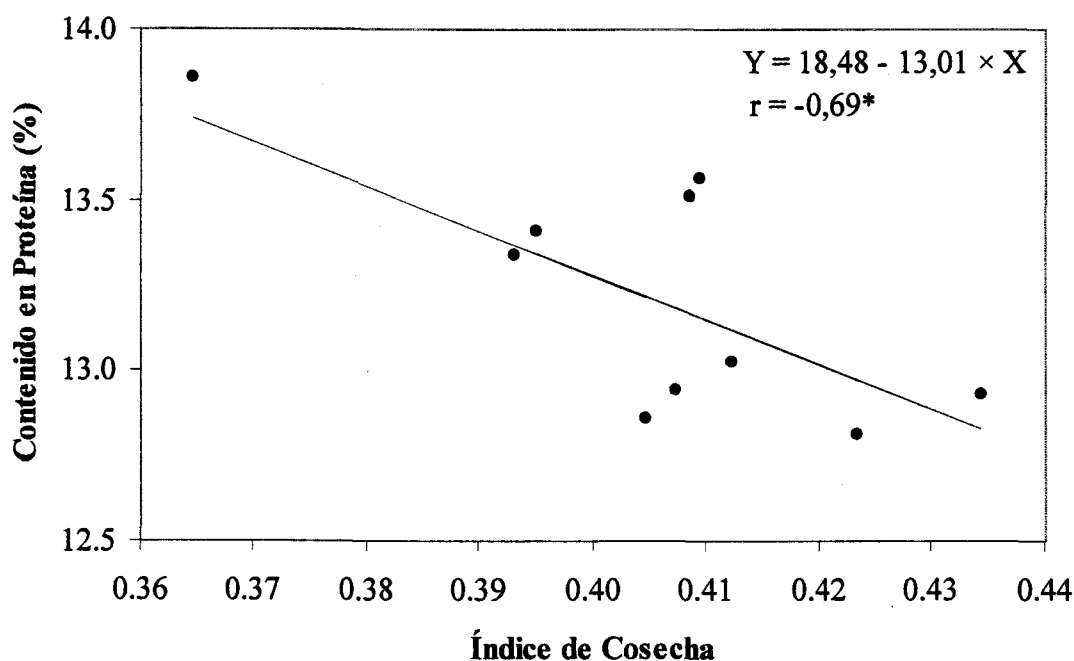
**Figura 1.1** Regresión del contenido en proteína vs. rendimiento del grano de 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000). Los valores son las medias genotípicas de tres años (n=90).



La regresión del contenido en proteína sobre el rendimiento en grano (figura 1.1) resultó en una asociación negativa que se ajustó a una ecuación asintótica altamente significativa ( $R^2 = 0,60^{***}$ ). El valor de la asíntota horizontal fue de 10,81, lo que indica que los contenidos en proteína del grano no bajarían de 10,80, aunque el rendimiento en grano aumente. Por otra parte, la pendiente de la curva tiende a ser muy baja para valores de rendimientos de 5000 kg ha<sup>-1</sup> o más.

Para profundizar en el estudio de la relación rendimiento-proteína, y puesto que se trata de una relación fisiológica entre la acumulación de los carbohidratos y la proteína en el grano, se ha estudiado a nivel genotípico la posible relación entre el contenido proteico y el índice de cosecha como indicador de la eficiencia de translocación de los fotoasimilados al grano.

La regresión del contenido en proteína y el índice de cosecha (figura 1.2) reveló un relación lineal negativa y moderadamente significativa ( $r = -0,69^*$ ).



**Figura 1.2.** Regresión del contenido en proteína vs. índice de cosecha de 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000). Los valores son las medias globales genotípicas ( $n=10$ ).

### **3.4. Heredabilidad del rendimiento en grano, contenido en proteína e índice de cosecha**

Los valores de la heredabilidad en sentido amplio ( $H^2$ ) para los tres caracteres se presentan en la tabla 1.6.

Cuando se considera cada ambiente por separado, se observa que, en las condiciones de Jerez, los caracteres en cuestión presentaron una  $H^2$  media. En los ambientes de Granada, el secano permitió unos valores de  $H^2$  relativamente satisfactorios para el rendimiento en grano y el índice de cosecha, mientras que el contenido en proteína tuvo una heredabilidad muy baja en ambos ambientes de Granada.

Cuando se estudia la herencia de los tres caracteres considerando el factor ambiental como la combinación de los años y ambientes (es decir las 9 posibles combinaciones), se observa que la heredabilidad de los tres caracteres presenta unos valores muy altos, sobre todo para el contenido en proteína ( $H^2 = 0,705$ ).

Tabla 1.6. Heredabilidad en sentido amplio ( $H^2$ ) para el rendimiento en grano, el contenido en proteína y el índice de cosecha de 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes y durante tres años.

Ambiente	Rendimiento en grano	Contenido en proteína	Índice de cosecha
CIFA	0,277	0,096	0,059
Ochíchar	0,416	0,001	0,576
Jerez	0,458	0,492	0,481
Total de los ensayos	0,427	0,705	0,690

### **3.5. Influencia de las variables climáticas sobre la acumulación de la proteína en el grano**

En la tabla 1.7 se presenta el resultado de la regresión múltiple para el contenido en proteína y las variables climáticas, temperaturas máxima y mínima y precipitaciones, durante las tres fases del ciclo de crecimiento del cultivo (1ª fase = nascencia + establecimiento; 2ª fase = ahijamiento + antesis; y 3ª fase = llenado del grano + madurez).

La ecuación de regresión obtenida se presenta a continuación:

$$\text{Prot.} = 61,9 - 0,004 \cdot P_2 - 0,97 \cdot T_{\min 2} + 0,25 \cdot T_{\max 2} - 1,28 \cdot T_{\max 3} - 0,05 \cdot P_3 - 0,009 \cdot P_1 - 0,62 \cdot T_{\min 3}$$

Donde:

Prot. = contenido en proteína.

$P_1$  ,  $P_2$  ,  $P_3$  = Precipitaciones durante la 1ª fase, 2ª fase y 3ª fase del desarrollo del cultivo, respectivamente.

$T_{\max 2}$  ,  $T_{\max 3}$  = Temperaturas máximas de la 2ª fase y 3ª fase del desarrollo del cultivo, respectivamente.

$T_{\min 2}$  ,  $T_{\min 3}$  = Temperaturas mínimas de la 2ª fase y 3ª fase del desarrollo del cultivo, respectivamente.

Las variables climáticas incluidas en el modelo determinaron el 69,2% del contenido en proteína. De este análisis se destaca la importancia de la disponibilidad de agua en la fase previa a la antesis, ya que las precipitaciones (+ el riego en el caso de los ensayos del CIFA) explicaron el mayor  $R^2$  en el modelo (35,4%) y estuvieron negativamente asociadas con el contenido en proteína. Las precipitaciones durante la 1ª y 3ª fase de ciclo de la planta favorecieron moderadamente el contenido en proteína, con  $R^2$  parciales del 5 y 2,5%, respectivamente.

En cuanto al efecto térmico, las temperaturas mínimas en la 2ª fase fueron importantes en la determinación del contenido en proteína ( $R^2 = 16,6\%$ ), pero con una relación negativa, mientras que en la misma fase, las temperaturas máximas estuvieron

positivamente correlacionados con el contenido en proteína, pero determinaron menos este último ( $R^2 = 3,8\%$ ). Durante la 3ª fase, las temperaturas máximas y mínimas fueron de menor importancia para el contenido en proteína, con  $R^2$  de 3,2 y 2,7%, respectivamente.

**Tabla 1.7.** Resultado de la regresión múltiple del contenido en proteína y las variables climáticas utilizando el método de selección: Stepwise.

Etapa	Variable incluida	$R^2$ parcial (%)	$R^2$ acumulado (%)
1	P <sub>2</sub>	35,4	35,4
2	T <sub>min2</sub>	16,6	52,0
3	T <sub>max2</sub>	3,8	55,9
4	T <sub>max3</sub>	3,2	59,0
5	P <sub>3</sub>	2,5	61,5
6	P <sub>1</sub>	5,0	66,5
7	T <sub>min3</sub>	2,7	69,2

#### 4. DISCUSIÓN

Los genotipos estudiados mostraron una gran variabilidad fenotípica para el rendimiento en grano, el contenido en proteína y el índice de cosecha, lo que permite la posibilidad de selección de los mejores genotipos en cuanto a adaptación al ambiente mediterráneo y calidad del grano. La variación genotípica puede ser debida a las diferencias en la absorción de nitrógeno desde el suelo antes de la antesis, a la actividad de las raíces durante el llenado del grano, a la eficiencia de la translocación de los compuestos nitrogenados desde los tejidos vegetativos hacia los granos y al índice de cosecha (Kramer, 1979; Jenner *et al.*, 1991). Tal como se ha señalado en muchos estudios (Peterson *et al.*, 1992; Novaro *et al.*, 1997; Uhlen *et al.*, 1998), los factores ambientales ejercen un mayor efecto sobre el rendimiento en grano y el contenido en proteína que el genotipo, mientras que la interacción genotipo  $\times$  ambiente resulta ser de menor importancia. En nuestro estudio, se han obtenido resultados similares para los mismos caracteres (tabla 1.4). En la zona mediterránea, los mayores obstáculos para la

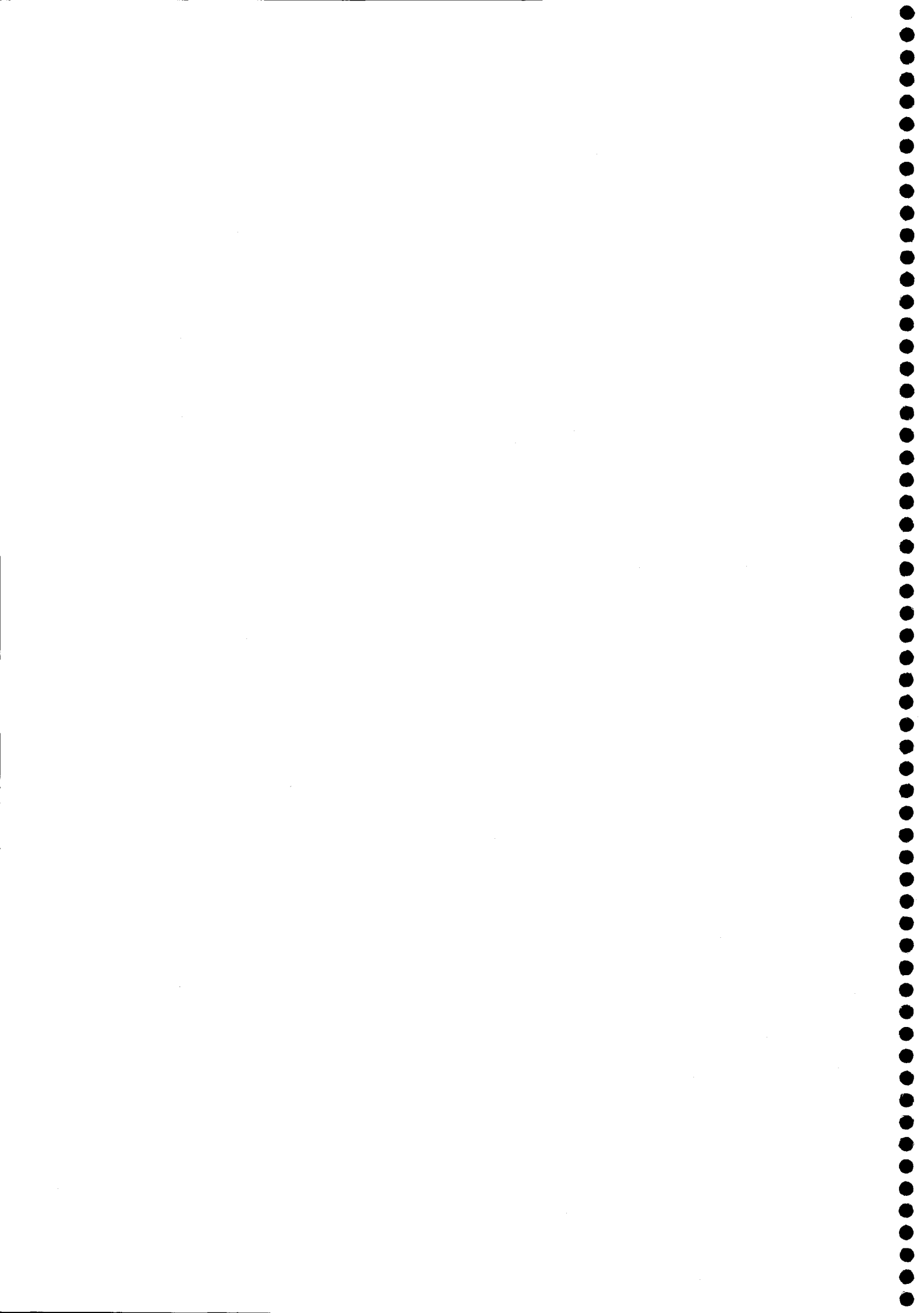
producción de cereales son el déficit hídrico y las altas temperaturas durante el llenado del grano (Loss y Siddique, 1994), factores que pueden causar grandes fluctuaciones, no solo en el rendimiento en grano, sino también en los parámetros de calidad, especialmente el contenido en proteína (Borghi *et al.*, 1997; Royo *et al.*, 1998; Fernández-Figares *et al.*, 2000).

La relación negativa entre el contenido en proteína y el rendimiento en grano encontrada en este estudio es consistente con los resultados de trabajos similares y parece ser causada por una dilución de los compuestos nitrogenados cuando aumenta la deposición de carbohidratos consecuencia del proceso fotosintético (Cox *et al.*, 1986; Jenner *et al.*, 1991). Según Campbell *et al.* (1981), los altos contenidos en proteína se consiguieron siempre bajo condiciones desfavorables para la formación del grano, ya que la producción y la translocación al grano de los compuestos hidrocarbonados son más sensibles a las condiciones adversas que la acumulación de proteínas. En efecto, bajo condiciones mediterráneas existe una fuerte competición en el transporte de proteínas y de carbohidratos hacia el grano, tal como ha sido demostrado recientemente en triticale (Fernández-Figares *et al.*, 2000). Sin embargo, en nuestro estudio los valores observados del rendimiento en grano y el contenido en proteína se ajustaron mejor a una ecuación asintótica en lugar de a la conocida y usual regresión lineal. Esto indica que aumentos del rendimiento en grano por encima de un cierto nivel bajo condiciones favorables no disminuyen el contenido en proteína. Bajo las condiciones ambientales en las que se llevaron a cabo nuestros ensayos, disminuciones insignificantes en el contenido en proteína pueden ocurrir en trigo duro incluso con altos rendimientos. Por tanto nuestros resultados confirman la idea de que es posible mejorar el rendimiento y el contenido en proteína del trigo duro de forma simultánea, tal como ha sido demostrado para el trigo blando (Loffler y Busch, 1982; Stodart y Marshal, 1990; Gooding y Davies, 1997), donde se han podido desarrollar líneas mutantes con alto contenido en proteína, pero con rendimientos similares a sus líneas madres (Ali, 1995). Por otra parte, Cox *et al.* (1986) y Beninati y Busch (1992) indicaron la existencia de genes mayores que permiten obtener altas concentraciones de proteína sin efecto negativo sobre el rendimiento.

La relación negativa entre el contenido en proteína y el índice de cosecha encontrada en nuestro estudio confirma los resultados de otros trabajos sobre trigo blando (Kramer, 1979; Beninati y Busch, 1992) y tritordeo (Ballesteros, 1993). Esta relación viene causada por el hecho de que cualquier disminución de la cantidad de paja relativa a la cantidad de grano resulta en una reducción del porcentaje de proteína en el grano. La cantidad de biomasa vegetativa por unidad de biomasa en grano es muy determinante para el contenido en proteína (García del Moral *et al.*, 1985) por el hecho, ya comentado, de que más de 2/3 de la proteína acumulada en el grano maduro se encuentran en la planta durante la antesis (Austin *et al.*, 1977). Kramer (1979) indicó que el aumento del índice de cosecha ejerce un efecto doble, ya que la cantidad de paja (y por consiguiente el reservorio de proteínas) disminuye y, al mismo tiempo, se forma una gran cantidad de biomasa de grano, lo que hace que una menor cantidad de nitrógeno tenga que ser redistribuida hacia un mayor número de granos.

El estudio de la heredabilidad del rendimiento en grano, del contenido en proteínas y del índice de cosecha reveló importantes conclusiones acerca de la posibilidad de seleccionar para estos caracteres en los programas de mejora. Así, cuando se consideran los ensayos en conjunto, se obtuvieron valores de  $H^2$  de medios a altos. Resultados similares para el rendimiento en grano y el contenido en proteína se han obtenido para el trigo duro en la zona mediterránea (Boggini *et al.*, 1997) y para el trigo blando en Estados Unidos (Beninati y Busch, 1992). Cox *et al.* (1985) sugirieron que el contenido en proteínas es un carácter apropiado para los programas de selección de trigo debido su heredabilidad relativamente alta. En nuestro estudio, cuando se considera cada ambiente por separado, se lograron resultados inesperados para los tres caracteres. En efecto, los ambientes de Granada presentaron unos valores de  $H^2$  muy bajos sobre todo para el contenido en proteína. El ambiente de Jerez fue el único que permitió unos valores aceptables de  $H^2$ . De esta forma, parece ser que si se pretende seleccionar para un ambiente en concreto (adaptación específica), Jerez sería el ambiente más adecuado, tanto para la producción de grano como para el contenido en proteína. Para un programa de selección de amplia magnitud, como para la zona de Andalucía oriental (adaptación amplia), se podría seleccionar para los tres caracteres, ya que presentan valores de  $H^2$  bastante altos.

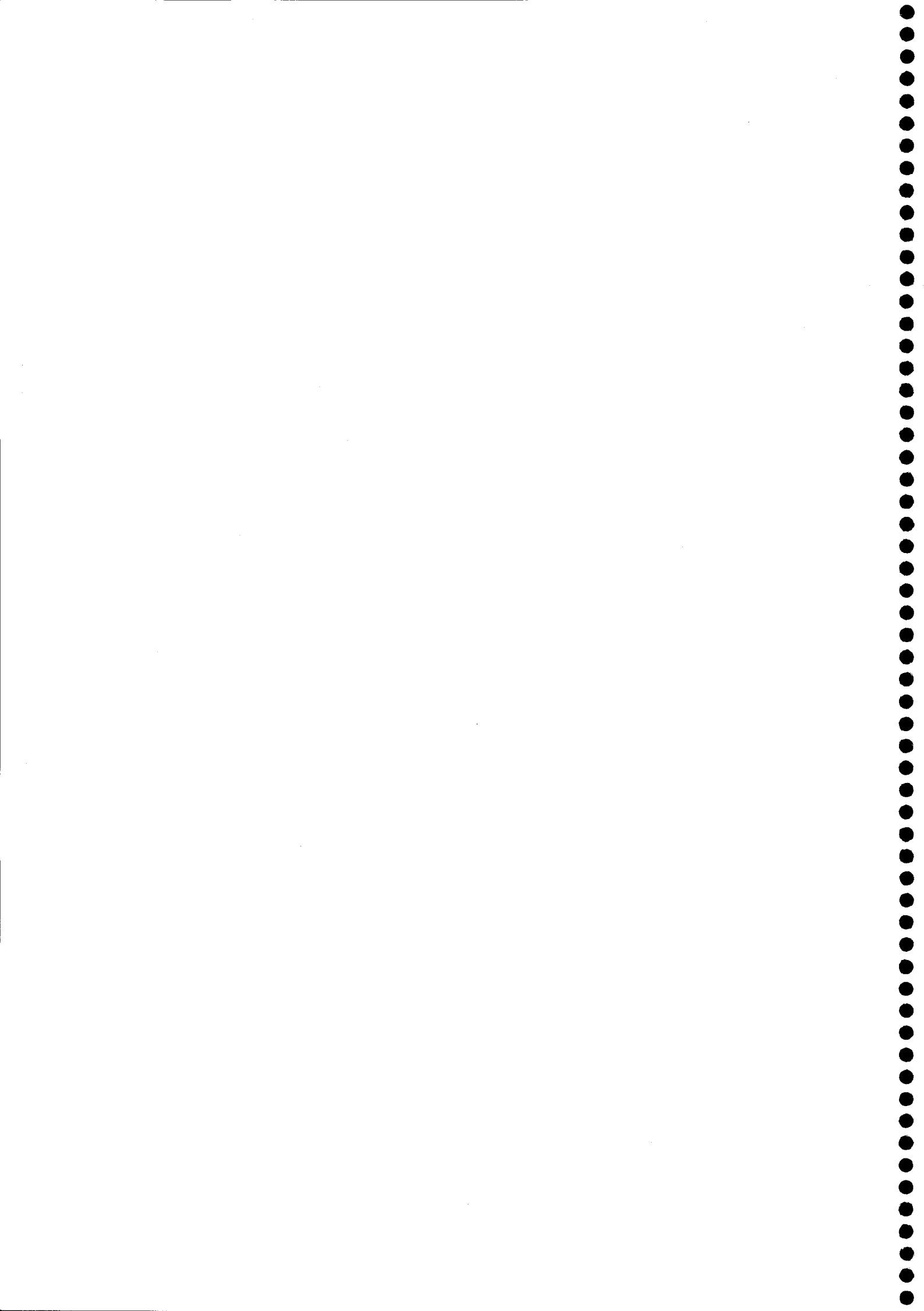
De las variables climáticas estudiadas, las precipitaciones y las temperaturas mínimas cerca de la antesis fueron las más determinantes. Desde un punto de vista fisiológico se han propuesto algunos mecanismos para explicar el efecto de la temperatura y de la disponibilidad de agua durante el llenado sobre la acumulación de proteínas y carbohidratos en el grano de los cereales. Así, se ha señalado que la acumulación de almidón y de proteínas en el grano de los cereales no son procesos sincrónicos, sino que generalmente, la deposición de proteínas comienza antes, y finaliza más pronto, que la de almidón, estando ambos procesos controlados por factores distintos (Jenner *et al.*, 1991). De esta forma, el aumento de temperatura parece reducir la acumulación de los carbohidratos en el grano más que la acumulación de nitrógeno, incrementando además la senescencia foliar y reduciendo, por tanto, la actividad fotosintética y el crecimiento del grano. Además, la principal fuente de proteínas para el grano de los cereales  $C_3$  la constituye la RuBisCO de las hojas (Nair y Chatterjee, 1990; Jenner *et al.*, 1991), cuya hidrólisis se vería acelerada por el aumento de senescencia causado por la temperatura. Esto puede explicar la relación positiva entre el contenido en proteína y las temperaturas máximas durante la fase de antesis y llenado del grano, encontradas en trigo (Campbell *et al.*, 1981; Gooding y Davies, 1997) y cebada (García del Moral *et al.*, 1996). En cuanto a la disponibilidad de agua, altos niveles de humedad durante el crecimiento de los granos incrementan a menudo la cosecha de proteínas, al mismo tiempo que reducen la concentración de nitrógeno en el grano. El agua puede incrementar la disponibilidad de nitrógeno para la planta, al permitir una mayor actividad de las raíces en la captación de formas nitrogenadas desde el suelo, favoreciendo su translocación e incorporación en la planta. Además, bajo condiciones de sequía, el grano tiende al asurado, con escasa acumulación de almidón y, en consecuencia, alta concentración de nitrógeno. Este efecto se debe a que la sequía durante el llenado de los granos acelera la senescencia de las hojas, favoreciendo la hidrólisis de la RuBisCO y la translocación de proteínas hacia el grano, de forma que la acumulación de carbohidratos y de proteínas aparecen linealmente relacionados (Fernández-Figares *et al.*, 2000). Las lluvias previas al desarrollo del grano (tal como ocurre en nuestro estudio) han sido consideradas como causantes de la dilución de las reservas tempranas del nitrógeno a causa de la proliferación vegetativa y al aumento del número de granos por unidad de superficie.







# CAPÍTULO 2



## 1. -INTRODUCCIÓN

Definir el concepto calidad, que a primera vista parece tan sencillo, resulta demasiado complejo a la hora de evaluar y medir los variados intereses por los que ha de pasar el grano (Verdugo, 1989). No obstante, se puede definir sencillamente como el conjunto de propiedades del trigo que permite su evaluación con el objetivo de darle un destino adecuado.

La industria del trigo duro tiene dos componentes importantes que influyen sobre los objetivos diseñados a la hora de obtener una variedad. El primer componente son los consumidores y los procesadores del campo agroalimentario, mientras que los agricultores y los molineros constituyen el segundo componente.

La calidad a nivel del agricultor se define como los factores que ofrecen la mejor rentabilidad económica y el mejor precio en el mercado. La calidad en el mercado está influida por el contenido en proteína, las características físicas (como la vitrosidad y el peso específico), la presencia de enfermedades en los granos (como la punta negra y la fusariosis), y los daños físicos causados por los insectos, la germinación de post-cosecha y las heladas. Además, las nuevas variedades tienen que satisfacer las esperanzas del agricultor en cuanto a un elevado rendimiento potencial en grano, solidez de tallos, resistencia a enfermedades, etc. Situándonos en la cadena de la calidad, las necesidades cualitativas de los molineros reflejan más factores, como el rendimiento en sémola, el contenido en cenizas, el color de la sémola y otras propiedades, como las características de fuerza del gluten. En el ámbito de la industria fabricante de pasta, intervienen otros factores, como el comportamiento de la sémola en el proceso industrial, el color y el aspecto de la pasta final, y las propiedades de cocción. La calidad a nivel del consumidor incorpora la mayoría de los factores previamente considerados por el procesador, tales como la apariencia externa de la sémola, y la textura y sabor de la pasta cocida (Clarke, 2000).

La evaluación de la calidad del trigo duro consiste en valorar cada uno de sus componentes más importantes, tanto a nivel del agricultor como para el molinero, el fabricante de la pasta y el consumidor. Para esto, se evalúa tanto la calidad extrínseca del grano (peso de mil granos, peso específico y vitrosidad), como su calidad intrínseca (contenido en proteína, pigmentos, cenizas y fuerza del gluten).

*El peso de mil granos* es uno de los componentes del rendimiento que más puede afectarse por las condiciones ambientales durante el final del ciclo de desarrollo del trigo, especialmente en el ambiente mediterráneo, caracterizado por el déficit hídrico y las altas temperaturas durante la fase de maduración de la planta. También permite caracterizar una variedad y poner en evidencia anomalías producidas en el grano durante su formación, como el asurado, así como estudiar la influencia de tratamientos realizados al cultivo o de las condiciones climáticas durante el mismo, que en conjunto lo modifican. El peso de mil granos es una medida aproximativa del tamaño del grano y de la proporción endospermo-cubiertas seminales. No existe ningún estudio que demuestre que las variedades con granos pequeños, es decir, con un bajo peso de mil granos, tengan una baja capacidad de producción de sémola. Sin embargo, un bajo peso de mil granos resultante de granos asurados tiene un alto efecto negativo sobre el rendimiento en sémola (Porceddu, 1995).

*El peso específico* es una medida de la densidad de los granos, es decir, del peso de granos que se pueden introducir de una manera estándar en una unidad de volumen. Es una medida, también, del grado de asurado de los granos, que en casos de asurado elevado puede reducirse hasta  $38 \text{ kg hl}^{-1}$ , mientras que granos gruesos y bien llenados pueden dar pesos específicos de más de  $80 \text{ kg hl}^{-1}$ . Como los granos asurados contienen, proporcionalmente, más cubiertas seminales que endospermo en comparación con los granos bien llenos, el peso específico es utilizado por los molineros como una guía aproximada del rendimiento esperado en sémola. Además, los agricultores y técnicos prefieren los granos grandes y vigorosos para la siembra, ya que tienden a tener un alto contenido en energía. Esta relevancia para un rango amplio de mercados hace del peso específico una de las medidas de calidad más utilizadas en el mundo (Gooding y

Davies, 1997). El nivel mínimo establecido por la Unión Europea para la intervención es de 80 kg h<sup>-1</sup> (Michelena *et al.*, 1995a).

*El contenido en proteína* es el criterio más común y usado en la calidad de los trigos. Es el primer determinante del valor del grano de trigo duro a nivel del agricultor, y de la sémola cuando pasa del molino a la fabricación de pasta (Clarke, 2000). Las proteínas se encuentran en el grano en forma de gránulos llamados masas proteicas que forman dentro del endospermo las proteínas de reserva. Estas últimas son las que dan a la sémola sus propiedades características (Williams *et al.*, 1988). El contenido en proteína se encuentra bajo el control genético, pero está muy influido por las condiciones ambientales, en particular la disponibilidad de nitrógeno y de agua en el suelo (Campbell *et al.*, 1981).

*El contenido en pigmentos*, que determina el color de la sémola, es un carácter muy importante en la evaluación de la calidad del trigo duro. El color de la sémola es el resultado de dos componentes, una coloración amarilla y otra marrón. El componente amarillo se debe al contenido en carotenoides y a la actividad del enzima lipoxigenasa. Los carotenoides incluyen a los carotenos, principalmente  $\beta$ -caroteno, y a las xantofilas. Entre estas últimas predominan la luteína, la luteína monoéster, la luteína diéster, la triticoxantina, la taraxantina, flavoxantina y cantaxantina. El color marrón no deseable se debe a la actividad peroxidasa y polifenoxidasa, aunque el trigo duro tiene poca actividad de dichas enzimas en comparación con otros tipos de trigo (Porceddu, 1995). De acuerdo a la Asociación Internacional de Ciencia y Tecnología de Cereales, el contenido en pigmentos amarillos se define como la cantidad de carotenoides extraíbles del endospermo, calculados en mg de 2-caroteno por 100 g de materia seca (Lindhauer, 2000). Un alto contenido en 2-caroteno en trigo duro es un carácter deseable para la producción de pasta, couscous y bulgur (Gooding et Davies, 1997). El color amarillo del trigo duro viene afectado por enzimas oxidantes, en particular lipoxigenasa que destruye a los carotenos y xantofilas causando la pérdida del color amarillo (Landi, 1995). La cantidad de las cubiertas seminales influye negativamente en el color amarillo de la sémola (Gooding y Davies, 1997) y las impurezas, tales como restos de insectos y granos con punta negra, afectan también a la coloración final de la pasta (Lindhauer,

2000). En Andalucía, el contenido en pigmentos alcanza valores entre 6 y 8 ppm, normalmente más elevados que en el resto de España. Por esta razón son muy apreciados por los semoleros, ya que las pastas a que darán lugar presentan una coloración más amarillenta sin necesidad de colorantes añadidos y serán más apetitosas para el consumidor.

*El test de sedimentación SDS* es una técnica rápida y simple para evaluar la fuerza del gluten en trigo duro (Dexter *et al.*, 1980). La calidad de la proteína, y en particular, la fuerza del gluten es un factor muy importante en la fabricación de pasta (Clarke, 2000). La calidad de la pasta durante la cocción viene determinada principalmente por su capacidad de absorción de agua, mientras retiene su firmeza y su forma, sin que vuelva pegajosa incluso después de ser cocida (Sarrafí *et al.*, 1989). Entre las distintas técnicas usadas para la evaluación de la fuerza del gluten, el test SDS tiene la ventaja sobre el famoso test de Zeleny de realizarse con trigo molido de granulometría de un milímetro, en vez de con harina, y porque utiliza solo 1 g de muestra, mientras que el test de Zeleny necesita 150 g, por lo que no es deseable en los programas de mejora con evaluación del material genético. El test SDS depende del grado de hidratación de las proteínas y de su grado de oxidación. Su fundamento reside en que las proteínas con buena capacidad de hidratación y buen estado de oxidación dan lugar a suspensiones estables después de haber estado en contacto con ácido láctico y dodecilsulfato de sodio. La altura del sedimento, después de una agitación estándar y un periodo de reposo, está directamente relacionada con la fuerza del trigo (Williams *et al.*, 1988). El test de sedimentación SDS establece la calidad de las proteínas determinada por sus componentes aminoácidos específicos para la calidad de gluten, probablemente por ser capaz de separar las subunidades de glutenina de alto y medio peso molecular que, por contener cisteína en su cadena, son capaces de formar puentes disulfuro. Este método puede llegar a determinar no ya el contenido en proteína, sino su valor cualitativo, permitiendo extraer de grandes poblaciones individuos con caracteres óptimos de buen gluten (Verdugo, 1989).

*La vitrosidad* es el parámetro más importante de los que se analizan normalmente en un trigo duro. La descripción de un grano como vítreo implica que el

endospermo tiene una apariencia vidriosa y translúcida, más que un aspecto harinoso (Gooding y Davies, 1997). Esta apariencia viene dada por el hecho de que cuando la luz interacciona con un endospermo compacto y rico en proteína se difracta, dándole un aspecto cristalino, mientras que un endospermo pobre en proteína refleja la luz, proporcionando una apariencia blanca (Jiménez González, 1995). Así, resulta importante considerar este parámetro, pues al estudiarlo nos acercamos a la estructura interna del grano dándonos una idea de su dureza y compacidad. En trigo duro, se correlaciona mucho con el rendimiento en sémola, ya que los granos vítreos y de textura compacta tienden a romperse para producir sémola, mientras que los granos harinosos y semi-harinosos tienden a dar lugar a productos más finos (harina) lo que reduce el rendimiento en sémola (Porceddu, 1995). La vitrosidad está influida por las condiciones ambientales como la disponibilidad de agua y de nitrógeno (Robinson *et al.*, 1979). Un clima húmedo y poco soleado hace descender los porcentajes de granos vítreos. En Andalucía, esto no es usual, y por tanto, no suelen aparecer problemas de este tipo, salvo en años excepcionales.

*El contenido en cenizas* es, probablemente, el primer determinante de la calidad de la sémola, y como tal está regulado en muchos países, por estar asociado con las impurezas de las cubiertas seminales (Landi, 1995; Clarke, 2000). Se trata de la parte mineral del grano que influirá sobre el rendimiento en sémola y sobre la calidad de las pastas que posteriormente se producirán. Así, de la cantidad de cenizas que posean los granos, entre otros factores, dependerá el que puedan ser catalogados como superiores o no. Las cenizas están irregularmente distribuidas en el grano (Abecassis y Feillet, 1985). En efecto, la cantidad de cenizas en la periferia del grano puede mostrar diferencias genéticas debidas a factores como la forma del grano y su longitud. Sin embargo, las cenizas del endospermo también muestran diferencias genéticas y ambientales que no están relacionadas con la contaminación por las cubiertas seminales. En este sentido, se ha encontrado más cantidad de cenizas en ambientes con alta transpiración del cultivo que en ambientes de baja transpiración (Araus *et al.*, 1998). En Andalucía, los contenidos en cenizas están en un término medio (ni excesivamente alto, ni muy bajos) entre 1,6 y 1,8%.

En los programas de selección, los mejoradores se interesan mucho sobre la magnitud de la interacción genotipo  $\times$  ambiente, ya que determina la estabilidad de un carácter durante una serie de años y en varias localidades. También se utiliza el estudio de la interacción para determinar aquellos genotipos con adaptación específica a un determinado ambiente o aquellos que presentan adaptación más general. En cuanto a los parámetros de calidad, pocos estudios enfocan la influencia genética y ambiental a partir de los resultados de una red de ensayos de variedades de trigo duro, sobre todo en España. Michelena *et al.* (1995a) estudiaron, en el nordeste español, la estabilidad de 16 variedades de trigo duro para diferentes parámetros de calidad en ensayos multilocales y encontraron que la interacción año  $\times$  localidad fue la más importante para varios caracteres. Sin embargo, no les fue posible explicar la naturaleza de la interacción genotipo  $\times$  ambiente. Los mismos autores (Michelena *et al.*, 1995b) llegaron a las mismas conclusiones en cuanto a la interacción genotipo  $\times$  ambiente en trigo harinero. En un estudio de trigo duro, combinado entre el norte y el sur de España, el efecto de la interacción triple zona  $\times$  ensayo  $\times$  año fue determinante para muchos parámetros, ejerciendo también una gran influencia individual los efectos ambientales (Juan-Aracil y Michelena, 1995). Matsuo *et al.* (1982), estudiando un ensayo de 30 variedades en dos localidades durante dos años, encontraron que en general la magnitud de las interacciones entre dichos factores era menor en relación con la variación explicada por cada uno de ellos por separado. Autran *et al.* (1986) cuantificaron la influencia genética y ambiental sobre diversos parámetros de calidad en Francia basándose en ensayos en 4 localidades, pero no llegaron a estimar las interacciones. En un estudio llevado a cabo en la cuenca mediterránea, basado en ensayos multilocales con material procedentes de ICARDA, se demostró que existe una interacción significativa entre el genotipo y el ambiente para parámetros de calidad del grano de trigo duro (Nachit *et al.*, 1995). Peterson *et al.* (1992) encontraron una contribución significativa de los genotipos, los ambientes y sus interacciones, para la variación en cada parámetro de calidad. En un estudio con 10 genotipos de trigo duro durante dos años en 4 localidades canadienses, Ames *et al.* (1999) demostraron que la interacción genotipo  $\times$  ambiente fue la más importante para determinar el contenido en proteína, pero de poca magnitud para el test de sedimentación SDS.



En los estudios de parámetros de calidad, averiguar la naturaleza de las relaciones existentes entre estos parámetros es de la mayor importancia a la hora de seleccionar variedades con valores aceptables en todos los caracteres de calidad. En este sentido, muchos trabajos han determinado la relación entre estos parámetros, al objeto de poder definir los valores más adecuados de calidad para cada zona en estudio. Uno de los métodos usados para determinar las relaciones entre el rendimiento y sus componentes es el llamado "análisis de senderos". Este método, según las fuentes consultadas en este trabajo, no ha sido utilizado previamente para analizar las relaciones entre los parámetros de calidad, aunque puede ayudar a discriminar entre los efectos directos e indirectos que ejerce un determinado carácter sobre los demás. El análisis mediante coeficientes de sendero (*Path coefficients analysis*), ideado por Wright (1921, 1923) y posteriormente elaborado y difundido por Li (1955, 1956, 1975) ofrece una interpretación basada en relaciones de causa-efecto para cada variable, especificando la dirección en la que ejercen su influencia y valorando su importancia relativa dentro del sistema. Por ello, resulta especialmente útil para desentrañar las relaciones que existen entre las variables de un sistema múltiple cuando las variables independientes pueden encontrarse, a su vez, relacionadas entre sí. En nuestro estudio, mediante el análisis por coeficientes de sendero hemos analizado las relaciones entre la cosecha y el contenido en proteína y los principales parámetros de calidad del grano, separando la influencia que cada parámetro ejerce de forma directa (es decir por sí mismo) de la indirecta (a través de la modificación que cada uno de ellos pudiese inducir en los demás).

Los objetivos de este capítulo han sido los siguientes:

- (i) Evaluar las diferencias genéticas en la calidad entre el grupo de genotipos estudiados y determinar la magnitud de los efectos ambientales y de la interacción genotipo  $\times$  ambiente.
- (ii) Caracterizar los genotipos y ambientes en función de los distintos parámetros de calidad estudiados en este capítulo.
- (iii) Averiguar las relaciones entre estos parámetros al objeto de definir la mejor combinación posible para la zona de estudio.

## 2. MATERIAL Y METODOS

Los genotipos utilizados y los detalles experimentales pueden consultarse en el apartado correspondiente al primer capítulo.

### 2.1. Métodos analíticos

A continuación se describe la metodología usada en la determinación de los diferentes parámetros de calidad estudiados en este apartado.

#### *Peso de mil granos:*

El peso de mil granos se determinó como la media de tres pesos de 100 granos multiplicada por 10. Está expresado en gramos (g).

#### *Peso específico:*

El peso específico es una medida de la densidad de un conjunto de granos, es decir, del peso de granos que se pueden introducir de una manera estándar en una unidad de volumen. En nuestro caso, se obtuvo pesando la cantidad de granos contenida en un cilindro metálico de 0,25 l y expresándola como  $\text{kg hl}^{-1}$ .

#### *Proteínas:*

El contenido de la proteína en el grano se determinó mediante el método Kjeldhal, desarrollado en 1883 por Johan G.C.T. Kjeldhal. Se somete una muestra de aproximadamente 0,8 g a una digestión con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador. Esta operación libera el nitrógeno en forma de sulfato amónico que, después de alcalinizarse por medio de una solución de hidróxido de sodio, libera el amoníaco.

Este último es arrastrado por destilación y recogido sobre ácido bórico. La posterior valoración con ácido clorhídrico permite el cálculo de la cantidad inicialmente presente de nitrógeno en la muestra. El porcentaje de nitrógeno determinado por este método (g de N por g de muestra) se multiplicó por 5,7 (factor de conversión de nitrógeno a proteína en grano de cereales) para determinar el porcentaje de proteína sobre base húmeda, que después de corregirse mediante el porcentaje de humedad de la muestra, se expresó finalmente sobre base seca.

#### *Pigmentos:*

El contenido en pigmentos se determinó midiendo el contenido en 2-carotenos según la metodología descrita en Fares *et al.* (1991), que es una modificación del método estándar de AACC. 1 g de harina integral es extraído durante 3 horas en agitación continua con 5 ml de 1-butanol saturado en agua. La suspensión se centrifuga durante 5 minutos a 6000 rpm. El sobrenadante se evalúa espectrofotométricamente a 448 nm contra una solución de 1-butanol como blanco. La escala de valores adoptada para el trigo duro es:

Contenido en pigmentos (2-carotenos)	Valores (ppm)
Bajo	< 5
Medio	5 – 7
Alto	> 7

#### *Test de Sedimentación SDS:*

Se trata de una prueba que evalúa la fuerza del gluten de muestras de harina integral de trigo duro. La proteína se disgrega por la acción del ácido láctico y del detergente SDS (dodecil sulfato de sodio). El volumen de sedimento, expresado en mililitros, indica la mayor o menor fuerza del gluten. El método usado fue el de sedimentación-SDS (Axford *et al.*, 1978) modificado por el CIMMYT. Se tomaron muestras de 1 g de harina integral, a las que se adicionaron 4 ml de agua destilada y 12

ml de ácido láctico-SDS en la proporción 1:48. Se agitaron varias veces y se realizó la lectura 14 minutos después de realizarse la última agitación. La escala de valores adoptada para el trigo duro es:

Sedimento (ml)	Fuerza del gluten
< 5	Débil
5 – 8	Intermedio-fuerte
> 8	Fuerte-muy fuerte

*Vitrosidad:*

Es un índice que determina el porcentaje de granos que presentan fractura vítrea en contraposición a los granos con “berrendeo”, blancos y harinosos. La vitrosidad se evaluó sobre una muestra de 200 granos considerando como grano no vítreo todo grano total o parcialmente harinoso, partido o infectado por virus u hongos.

*Cenizas:*

Expresan el contenido mineral del grano y de la sémola, e indican el grado de extracción de la misma. Se determinan mediante combustión total en horno mufla a 550 °C de aproximadamente unos 5 g de muestra de granos previamente secados en la estufa a 70 °C durante 48 horas. El procedimiento se realiza partiendo de 150 °C y aplicando una rampa de temperaturas a intervalos de 50 °C hasta llegar a los 550 °C de combustión. El residuo de la incineración debe presentarse completamente exento de partículas carbonosas y blanco o gris muy claro después del enfriamiento.

**2.2. Análisis Estadístico**

*Análisis de la varianza:*

Para detectar la variabilidad existente entre los genotipos estudiados y para estimar el grado de influencia del año y el ambiente, se realizó un análisis de varianza para los 7 parámetros de calidad. El modelo elegido fue mixto, considerando los factores genotipo y ambiente fijos y el del año aleatorio. Se estimaron también los componentes de varianzas correspondientes a cada efecto del modelo (considerado aleatorio para esta estimación) y se explicaron en porcentaje de la variación total observada.

#### *Comparación entre medias:*

Se realizó una comparación de medias a base del cálculo de las mínimas diferencias significativas (MDS) para ambientes y genotipos.

#### *Análisis de componentes principales:*

Para este análisis se han utilizado dos aproximaciones. Para estudiar el efecto ambiental se utilizaron las medias genotípicas en cada ambiente de todos los parámetros de calidad, mientras que para el enfoque genotípico se usaron las medias genotípicas globales. Se calcularon los eigenvectores de los parámetros de calidad incluidos en el modelo y también los eigenvalues para los genotipos ( $n = 30$  para el enfoque ambiental y  $n = 10$  para el enfoque genotípico).

#### *Correlaciones genotípicas, fenotípicas y heredabilidad:*

Para ello, se utilizó un modelo simplificado del análisis de la varianza, combinando los efectos de años y ambientes en un solo factor llamado “ensayo”, de forma similar a como se hizo en el capítulo anterior. Se estimaron las varianzas y covarianzas de todos los efectos del modelo y para todos los parámetros de calidad.

La heredabilidad en sentido amplio se calculó según la ecuación:

$$H^2 = \sigma_g^2 / \sigma_g^2 + (\sigma_{ge}^2/q) + (\sigma_{err}^2/qr)$$

Donde

- $\sigma_g^2$ : varianza genotípica.
- $\sigma_{ge}^2$ : varianza de la interacción genotipo  $\times$  ensayo.
- $\sigma_{err}^2$ : varianza del error.
- q : número de ensayos.
- r : número de repeticiones.

La correlación genotípica entre dos parámetros  $x$  e  $y$  ( $r_{g(xy)}$ ) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$r_{g(xy)} = \text{Cov}_g(x,y) / \sqrt{\sigma_{gx}^2 \times \sigma_{gy}^2}$$

Donde:

- $\text{Cov}_g(x,y)$ : covarianza genotípica entre los variables  $x$  i  $y$ .
- $\sigma_{gx}^2$ : varianza genotípica de la variable  $x$ .
- $\sigma_{gy}^2$ : varianza genotípica de la variable  $y$ .

De la misma manera, se calculó la correlación fenotípica entre dos parámetros  $x$  e  $y$  ( $r_{p(xy)}$ ) mediante la siguiente fórmula:

$$r_{p(xy)} = \text{Cov}_p(x,y) / \sqrt{\sigma_{px}^2 \times \sigma_{py}^2}$$

Donde:

- $\text{Cov}_p(x,y)$ : covarianza fenotípica entre los variables  $x$  i  $y$ .
- $\sigma_{px}^2$ : varianza genotípica de la variable  $x$ .
- $\sigma_{py}^2$ : varianza genotípica de la variable  $y$ .

*Análisis por coeficientes de sendero:*

Se realizó considerando el contenido en proteína como variable dependiente y los demás parámetros como variables independientes. Un coeficiente de sendero es un coeficiente de regresión parcial tipificado, es decir el obtenido después de expresar todas las variables, respecto de sus medias en unidades de desviación típica. Por tratarse de un tipo de coeficientes de regresión parcial, los coeficientes de sendero son unidireccionales (a diferencia de los de correlación que son bidireccionales) y su valor

puede ser positivo o negativo, así como mayor o menor que la unidad. Además, al haberse expresado por unidad de desviación típica resultan adimensionales (lo que los asemeja a los coeficientes de correlación) y, por ello, la magnitud de los coeficientes de sendero suministra una medida de la importancia relativa de las variables independientes que intervienen determinando a la dependiente. Este método permite dividir un coeficiente de correlación en sus componentes de efectos directos e indirectos, separando así la verdadera influencia de cada variable independiente sobre la dependiente (García del Moral *et al.*, 1992). El análisis por senderos utiliza coeficientes de correlación, y para su empleo se requiere fijar una dirección al sistema de causas-efectos, establecida bien mediante una hipótesis que se desea comprobar o bien por la previa evidencia experimental (Wright, 1921; Li, 1975).

El modelo elegido considera el contenido en proteína (factor 6) como dependiente, mientras que el peso de mil granos (factor 1), el contenido en pigmentos (factor 2), el test SDS de sedimentación (factor 3), la vitrosidad (factor 4) y el contenido en cenizas (factor 5), como factores independientes. Así, el efecto directo del peso de mil granos (P16) se obtiene de la forma siguiente:

$$P_{14} + r_{12} P_{26} + r_{13} P_{36} + r_{14} P_{46} + r_{15} P_{56} = r_{16}$$

donde  $r_{16}$  representa el efecto total de la variable 1 sobre la variable 6 (el coeficiente de correlación);  $P_{14}$  es su efecto directo (el coeficiente de sendero);  $r_{12} P_{26}$  es el efecto indirecto debido a la influencia que la variable 1 induce sobre la variable 2, y análogamente para  $r_{13} P_{36}$ ,  $r_{14} P_{46}$  y  $r_{15} P_{56}$ .

Para el conjunto de efectos, se calculó el siguiente sistema:

$$\begin{aligned} P_{16} + r_{12} P_{26} + r_{13} P_{36} + r_{14} P_{46} + r_{15} P_{56} &= r_{16} \\ r_{12} P_{16} + P_{26} + r_{23} P_{36} + r_{24} P_{46} + r_{25} P_{56} &= r_{26} \\ r_{13} P_{16} + r_{23} P_{26} + P_{36} + r_{34} P_{46} + r_{35} P_{56} &= r_{36} \\ r_{14} P_{16} + r_{24} P_{26} + r_{34} P_{36} + P_{46} + r_{45} P_{56} &= r_{46} \\ r_{15} P_{16} + r_{25} P_{26} + r_{35} P_{36} + r_{45} P_{46} + P_{56} &= r_{56} \end{aligned}$$

La variable (U) introducida en el modelo consta de todos aquellos factores residuales que influyen de forma independiente (de las variables consideradas) sobre la variable principal.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS/STAT (SAS Inc., 1997).

### 3. RESULTADOS

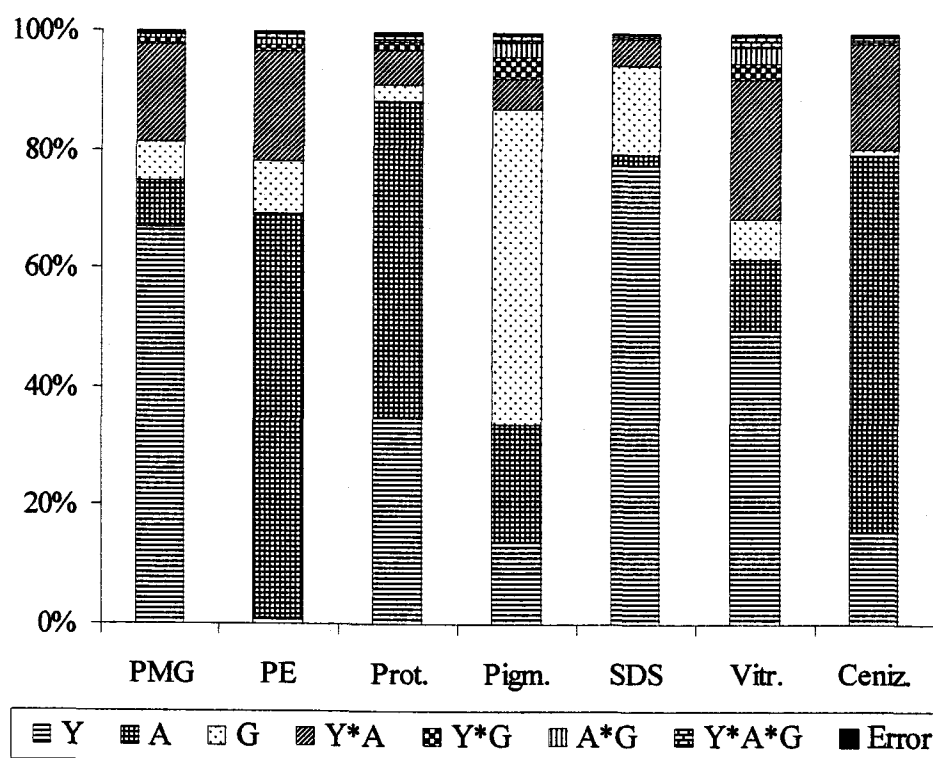
#### 3.1. ANOVA y componentes de la varianza

El análisis combinado de la varianza para los parámetros de calidad estudiados (tabla 2.1) reveló la importancia de los factores ambientales frente a los genotípicos y a las interacciones  $G \times E$ . El efecto del año, aunque de mayor magnitud, no fue significativo en casi todos los casos. El efecto ambiente resultó altamente significativo, mostrando las diferencias entre los distintos ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) en cuanto a disponibilidad de agua y fertilizantes en el suelo. Las diferencias genotípicas fueron muy significativas, aunque de muy baja magnitud, indicando un alto grado de variabilidad entre genotipos y, por consiguiente, la posibilidad de selección de aquellos que presenten mejor calidad. Las interacciones  $G \times E$  fueron significativas en la mayoría de los casos, sobre todo para la interacción triple año  $\times$  ambiente  $\times$  genotipo.

Para aclarar mejor la importancia de cada efecto sobre la variación total observada para los parámetros de calidad, se estimaron los componentes de la varianza para cada efecto, cuyos valores se presentan en la figura 2.1. Como ya se comentó anteriormente, los efectos ambientales (año y ambiente) determinaron en gran medida la varianza observada para la mayoría de los parámetros, lo que demuestra su gran dependencia ambiental. La influencia genética fue, en general, muy baja sobre todo para el contenido en proteínas y en cenizas, que dependieron mucho de las diferencias en



fertilizantes y nutrientes entre ambientes y años. El contenido en pigmentos fue el carácter de mayor dependencia genética, ya que el porcentaje de variación explicada por el genotipo fue del 52%. Otros parámetros, tales como el test de sedimentación SDS, la vitrosidad, el peso específico y el peso de mil granos, revelaron un control genético más débil (el porcentaje de variación osciló entre 6,4 y 15%).



**Figura 2.1.** Porcentajes de los componentes de varianza para los distintos parámetros de calidad de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000). Y = año, A = ambiente, G = genotipo.

La heredabilidad en sentido amplio ( $H^2$ ), fue muy alta para los caracteres de determinación genética, como el contenido en pigmentos (0,96), el peso de mil granos (0,89), el peso específico (0,66), el test de sedimentación SDS (0,98) y la vitrosidad (0,66). Estos resultados implican la posibilidad de una selección eficaz para estos parámetros en las primeras generaciones, sobre todo bajo condiciones similares a las de nuestro estudio.

**Tabla 2.1.** Cuadrados medios del análisis combinado de varianza para los parámetros de calidad de 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	PMG	PE	Contenido en proteína	Contenido en pigmentos	SDS	Vitrosidad	Contenido en cenizas
Año	2	3094,7	5,7	55,0	3,4	194,4 **	2066,0	1,56 -
Ambiente	2	371,2 ***	368,5 ***	85,0 ***	4,9 ***	5,0 ***	487,3 ***	6,36 ***
Genotipo	9	297,5 ***	47,6 ***	4,6 ***	13,0 ***	37,5 ***	277,3 ***	0,07 ***
Bloque (Y×E)	27	13,1 ***	2,3	0,9	0,1	0,5 ***	21,1 ***	0,05 ***
Y × E	4	769,5 ***	99,8 ***	8,9 **	1,2 **	10,6 ***	982,1 ***	1,77 ***
Y × G	18	35,3	4,4	2,3 *	1,0 **	1,1 *	111,4	0,05
E × G	18	35,8 ***	5,9 ***	0,6	0,6 ***	0,6 ***	115,3 ***	0,04 ***
Y × E × G	36	19,4 ***	5,3 ***	1,2 *	0,3 ***	0,5 ***	75,1 ***	0,05 ***
Error	243	5,3	1,8	0,8	0,1	0,2	2,7	0,02
Total	359							

Y = Año, E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

### 3.2. Comparación entre medias

#### *Ambientes:*

Los ambientes de secano presentaron valores altos (en comparación con el regadío) en todos los parámetros, salvo el contenido en cenizas (tabla 2.2). Esto demuestra que las zonas secas del sur ofrecen la posibilidad de obtener trigos duros de buena calidad. El secano de Granada (Ochíchar), favoreció buenos contenidos en proteína y porcentajes de vitrosidad, por la gran escasez de agua y las altas temperaturas durante la maduración que caracterizan a este tipo de ambientes. El ambiente de Jerez, aparte de permitir niveles aceptables de contenido en proteína y vitrosidad, favoreció también buenos valores en los demás parámetros de calidad, resultando ser el ambiente más favorable para la producción del trigo duro en la zona de estudio, quizás debido a su situación cerca de las influencias atlánticas que moderan los efectos negativos de la sequía sobre la calidad. En el ambiente de regadío (CIFA), los valores de calidad estuvieron por debajo de los obtenidos en los secanos, aunque fueron relativamente aceptables en el caso del peso específico y el porcentaje de vitrosidad. Este ambiente favoreció un elevado contenido en cenizas, probablemente debido a la riqueza mineral de suelo y a la disponibilidad de agua, lo que facilita una absorción mineral más alta que en los ambientes de secano.

#### *Genotipos:*

Hubo una diferencia significativa entre los genotipos para todos los parámetros de calidad, sobre todo para el peso de mil granos, el contenido en pigmentos y el test SDS (tabla 2.2), que presentaron el mayor rango de variación entre los genotipos (40,9-51,3; .3,6-5,7; 4,2-6,9, respectivamente). Estos resultados han sido contrastados con los valores mínimos establecidos por la Unión Europea para la intervención (peso específico de 80 kg hl<sup>-1</sup>, vitrosidad del 80%, y 12,5% de proteína), así como con los considerados como aceptables en España para contenido en pigmentos (6 ppm) y volumen SDS (6 ml). Todos los genotipos superaron dichos niveles para el peso específico, el contenido en proteína y la vitrosidad. En cuanto al contenido en

pigmentos, ninguno de los genotipos presentó valores dentro de los mínimos aceptables, aunque algunos se aproximaron bastantes, en especial Altar-aos (5,7 ppm) y Mexa (5,3 ppm), que son variedades comerciales españolas. Para el test de SDS, las tres variedades comerciales españolas (Altar-aos, Mexa y Vitrón) y la línea avanzada Korifla, tuvieron valores superiores a 6 ml. El contenido en cenizas se mantuvo relativamente aceptable, estando dentro de los valores considerados como normales en Andalucía (1,6 - 1,8%). Para el peso de mil granos, uno de los componentes del rendimiento y que depende mucho de las condiciones del cultivo y la sequía de fin de ciclo, los genotipos presentaron valores semejantes, con la excepción de Lagost-3 que tuvo el mayor peso de mil granos (51,3 g).

**Tabla 2.2.** Comparación entre medias de años, ambientes y genotipos para el peso de mil granos (PMG), peso específico (PE), contenido en proteína, contenido en pigmentos, test de sedimentación (SDS), vitrosidad y contenido en cenizas.

	PMG (g)	PE (kg hl <sup>-1</sup> )	Contenido en proteínas (%)	Contenido en pigmentos (ppm)	SDS (ml)	Vitrosidad (%)	Contenido en cenizas (%)
<b>Ambiente</b>							
CIFA	42,5 c†	80,5 c	12,53 c	4,58 b	5,40 c	91,5 b	2,10 a
Ochíchar	43,8 b	83,0 b	14,16 a	4,65 b	5,65 b	95,2 a	1,68 c
Jerez	46,0 a	83,8 a	12,98 b	4,96 a	5,80 a	92,2 b	1,73 b
<b>Genotipo</b>							
Altar-aos	40,9 g	84,1 a	12,93 e	5,7 a	6,6 bc	96,1 a	1,88 a
Awalbit	42,7 ef	83,5 b	13,86 a	5,1 c	5,4 e	91,3 c	1,85 ab
Jabato	41,7 fg	82,5 c	13,03 cde	4,9 cd	4,4 h	96,7 a	1,82 b
Korifla	44,5 bcd	81,3 d	12,94 de	4,7 de	6,9 a	93,4 b	1,87 ab
Lagost-3	51,3 a	81,8 d	13,34 bcd	4,1 g	4,6 g	87,4 d	1,85 ab
Mexa	45,2 b	80,5 e	12,86 e	5,3 b	6,5 c	91,6 c	1,83 ab
Omrabi-3	43,5 de	83,2 b	13,41 be	4,7 e	5,0 f	91,8 c	1,82 b
Sebah	43,9 cd	81,5 d	13,51 ab	3,6 h	5,9 d	93,3 b	1,87 ab
Vitrón	44,9 bc	82,8 bc	12,82 e	4,4 f	6,8 ab	92,1 bc	1,73 c
Waha	42,5 ef	83,2 b	13,56 ab	5,0 c	4,2 h	95,8 a	1,86 ab

†: Dentro de las columnas y factores, valores con la misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0,05$  según el test de las mínimas diferencias significativas.

### 3.3. Análisis por componentes principales

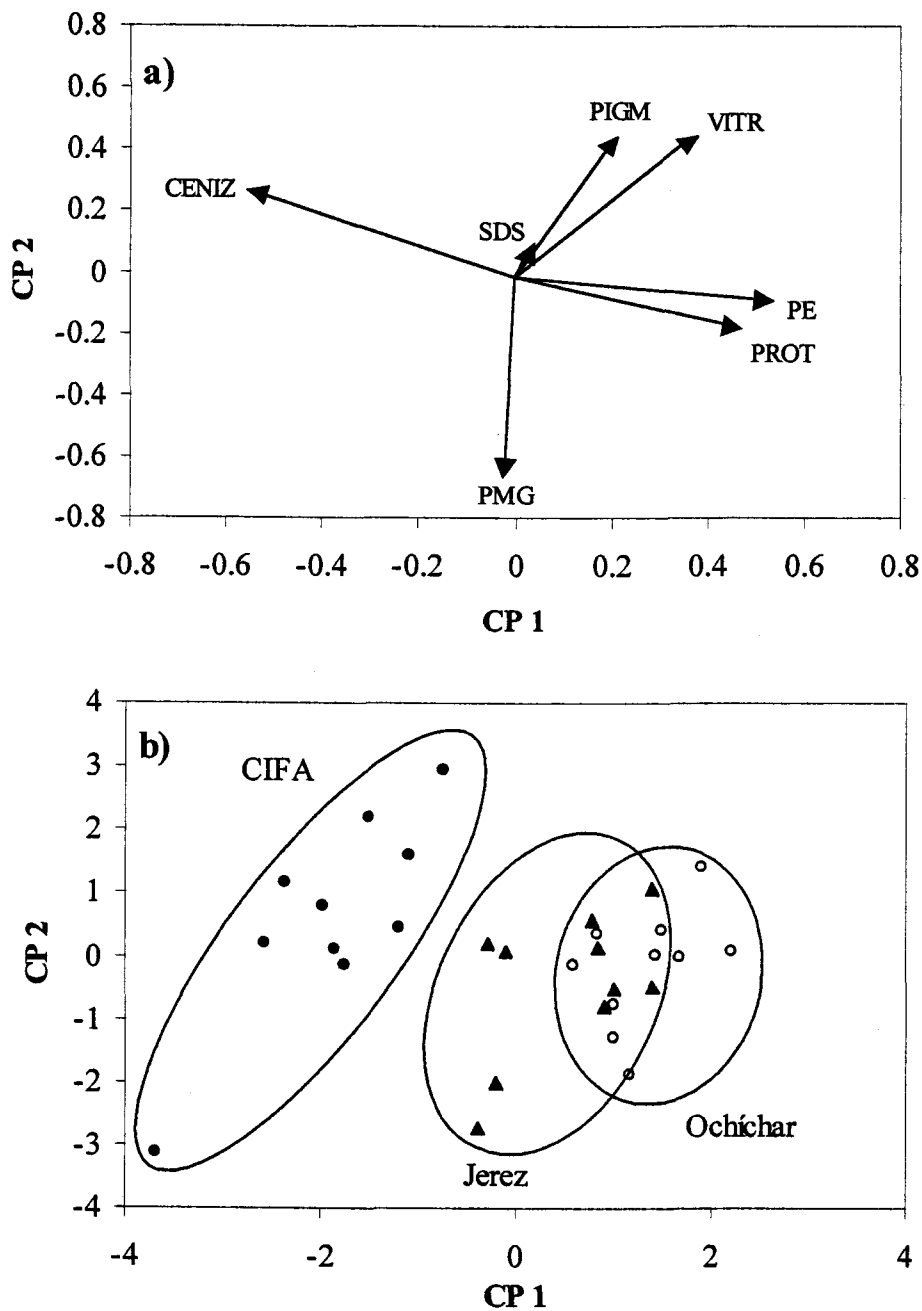
#### 3.3.1. Aproximación ambiental

Como ya se había visto en el análisis de la varianza (tabla 2.1), existió variabilidad significativa entre los ambientes. Para detectar las combinaciones de caracteres que mejor explican esta variabilidad, se utilizó el análisis de componentes principales, realizado sobre la matriz de correlación de los 7 variables que se muestran en las figuras 2.2 y 2.3. Los tres primeros ejes de los componentes principales (CP) explicaron un total del 76,05% de la varianza: 34,06; 24,84 y 17,15 para los ejes 1, 2 y 3, respectivamente. Puesto que la mayor parte de la variación podría ser explicada considerando los tres ejes, se proyectaron los datos sobre dos planos diferentes, los determinados por los ejes 1 y 2 (figura 2.2) y 1 y 3 (figura 2.3).

Las figuras 2.2a y 2.3a presentan los eigenvectores de los caracteres que influyen sobre cada eje. Las figuras 2.2b y 2.3b presentan la proyección sobre los planos 1-2 y 1-3 de los 30 puntos que representan las medias de las 30 combinaciones diferentes de ambientes y genotipos.

*El eje 1 mide las características intrínsecas del grano.* En efecto, hacia su lado positivo se encuentra el peso específico, muy ligado al contenido en proteína, mientras que la vitrosidad aparece estrechamente relacionada con el contenido en pigmentos. Se observa que un aumento en el contenido en proteína está ligado a un elevado peso específico y, de la misma manera, el color amarillo de la sémola a un porcentaje elevado de granos vítreos. En el lado negativo del mismo eje 1, se encuentra el contenido en cenizas, que parece estar negativamente correlacionado con el grupo de parámetros del otro lado.

*El eje 2 mide la morfología del grano,* puesto que separa, en su lado positivo, la vitrosidad y el contenido en pigmentos, del peso de mil granos en su lado negativo, carácter que refleja normalmente el tamaño del grano. Los resultados parecen indicar que un grano de gran tamaño tiende a tener más zonas harinosas y menos pigmentación.



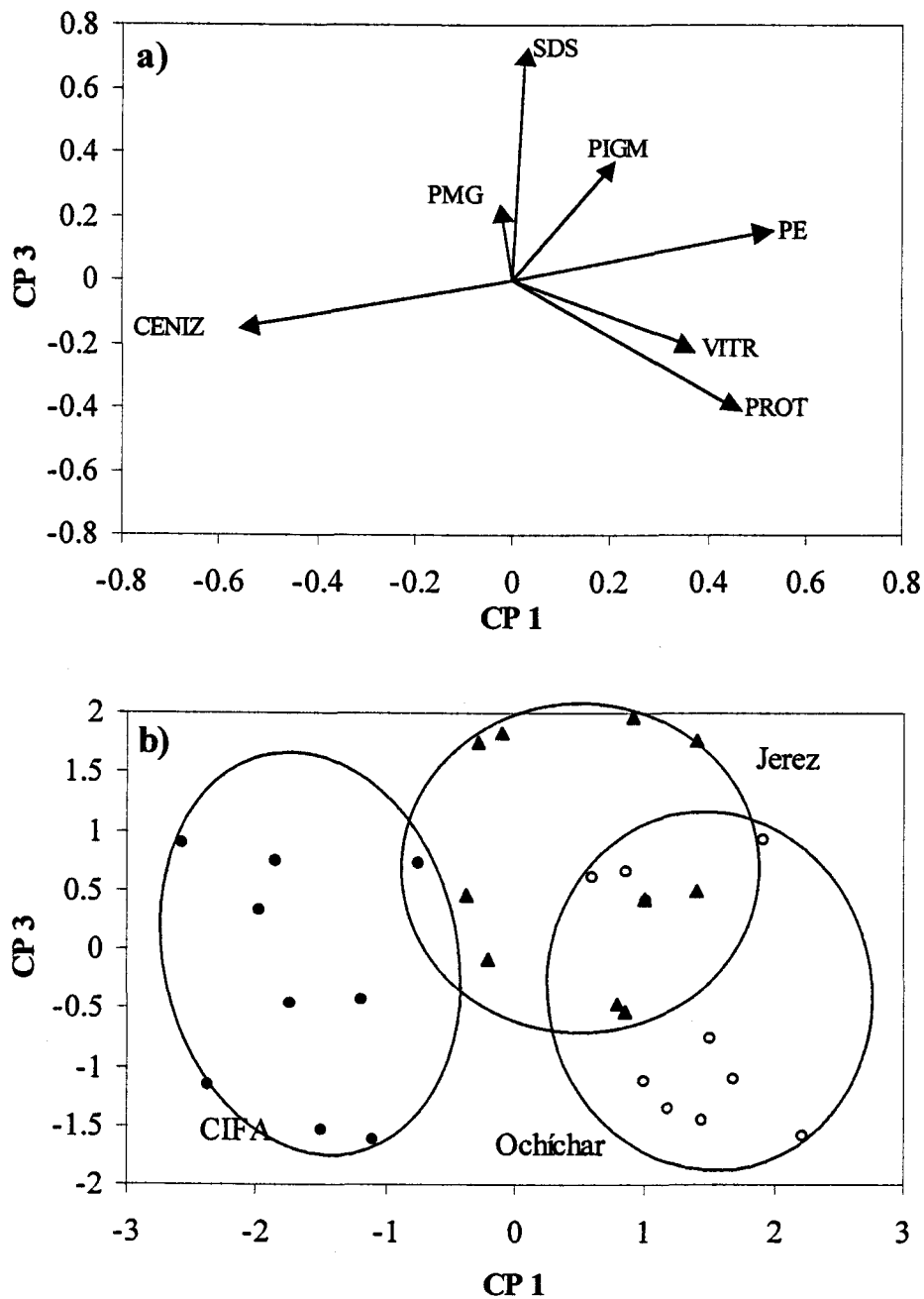
**Figura 2.2.** Proyecciones del análisis de componentes principales (ACP) sobre los ejes 1 y 2 (Figura 2.2a y 2.2b) explicando el 58.9% de la varianza total. En la figura 2.2a, los eigenvalues de la matriz de correlaciones están simbolizados como vectores representando los caracteres que más influyen sobre cada eje. La longitud de la proyección de cada vector sobre cada eje de componentes principales mide el peso (eigenvalue) de su influencia sobre este eje, mientras que el ángulo entre cada dos vectores están inversamente proporcionado a su correlación. PMG = peso de mil granos, PE = peso específico, PROT = contenido en proteína, PIGM = contenido en pigmentos, SDS = test de sedimentación, VITR = porcentaje de vitrosidad, CENIZ = contenido en cenizas. En la figura 2.2b los 30 puntos que representan las medias genotípicas para cada ambiente (Regadio, Ochíchar y Jerez) están ilustrados en el plano determinado por los ejes 1 y 2.

*El eje 3 representa principalmente la fuerza del gluten.* Sobre este eje, por tanto, se proyecta mayoritariamente el test SDS, que interacciona en dirección positiva. En el lado negativo, se destaca el contenido en proteína, que parece tener un influencia negativa sobre el volumen de sedimentación SDS y, por lo tanto, sobre la fuerza del gluten.

Los puntos presentados sobre el plano determinado por los dos primeros ejes (figura 2.2b), se agruparon en función del ambiente (Regadío, Secano y Jerez). El eje 1 discrimina claramente entre los regímenes hídricos. Los puntos correspondientes al Regadío se encuentran en la parte izquierda de la figura, mientras que aquellos correspondientes a los secanos de Granada y Jerez se encuentran en la parte derecha. Sobre el eje 2, no se ve una clara tendencia entre los ambientes, pero se observa que, dentro de cada ambiente, los genotipos se dispersan mucho a lo largo de este eje. En la figura 2.3b, se agruparon los puntos del mismo modo según los ambientes. Sobre el eje 3 se observa una relativa separación de los ambientes de Granada del ambiente de Jerez, estando este último en la parte superior (dirección positiva sobre el eje), y los ambientes de Regadío y Secano de Granada, en la parte inferior (dirección negativa).

De todo esto se deduce que los ambientes de secano (de Granada y Jerez), favorecieron una buena calidad de los granos, con valores altos en el contenido en proteína y en pigmentos, pesos específicos elevados y granos muy vítreos, y con poco contenido en ceniza. El ambiente de regadío, además de no favorecer la calidad del grano, permitió más acumulación de los minerales en el grano, carácter normalmente no deseable entre los mejoradores y, sobre todo, para los molineros. Entre las dos provincias (Granada y Jerez), se ve que, aunque bajo condiciones de secano, Jerez favorece más los trigos con gluten fuerte y de color amarillo, mientras que Granada permite mayor acumulación de proteínas en el grano, que en su vez tiende a ser muy vítreo.

### **3.3.2. Aproximación genotípica**



**Figura 2.3.** Proyecciones del análisis de componentes principales (ACP) sobre los ejes 1 y 3 (Figura 2.3a y 2.3b) explicando el 51,21% de la varianza total. En la figura 2.3a, los eigenvalues de la matriz de correlaciones están simbolizados como vectores representando los caracteres que más influyen sobre cada eje. La longitud de la proyección de cada vector sobre cada eje de componentes principales mide el peso (eigenvalue) de su influencia sobre este eje, mientras que el ángulo entre cada dos vectores están inversamente proporcionado a su correlación. PMG = peso de mil granos, PE = peso específico, PROT = contenido en proteína, PIGM = contenido en pigmentos, SDS = test de sedimentación, VITR = porcentaje de vitrosidad, CENIZ = contenido en cenizas. En la figura 2.3b los 30 puntos que representan las medias genotípicas para cada ambiente (Regadío, Ochíchar y Jerez) están ilustrados en el plano determinado por los ejes 1 y 3.



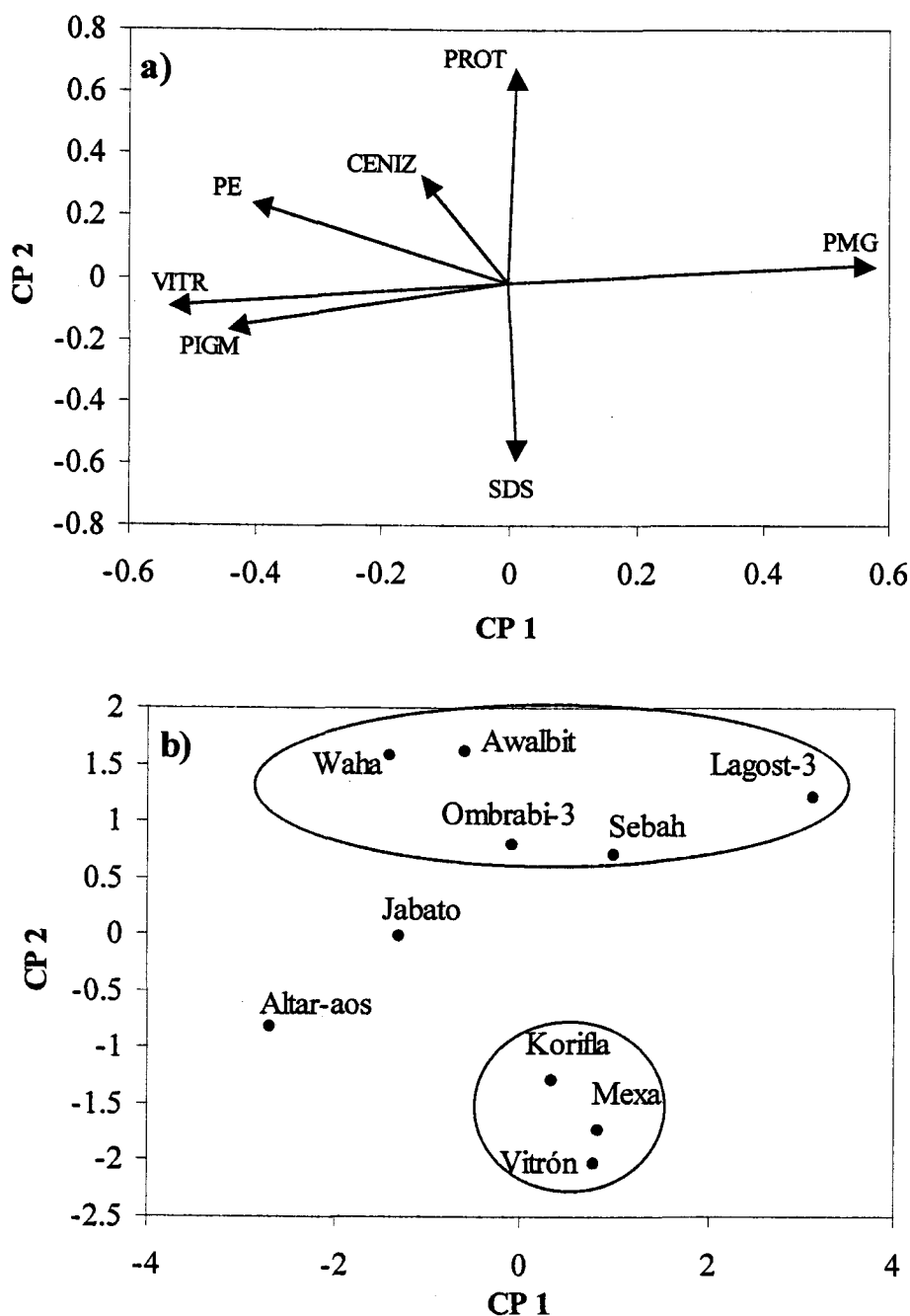
Las diferencias genotípicas fueron evaluadas igualmente mediante análisis de componentes principales, sobre las medias genotípicas en el total de los ambientes para los 7 parámetros que se presentan en la figura 2.4. Este análisis revela la existencia de dos ejes de componentes principales, que explican el 64,38% de la varianza total. La figura 2.4a representa los eigenvectores que influyen sobre cada eje. El eje 1 (que cuenta con 37,21% de varianza), separa las características intrínsecas del grano (representadas por el peso específico, la vitrosidad y el contenido en pigmentos) del tamaño del grano (peso de mil granos), estando estos dos grupos de caracteres negativamente relacionados. Sobre el eje 2 (27,17% de varianza), se distingue una relación negativa entre el contenido de proteína (en la parte superior) y el volumen de sedimentación SDS (parte inferior).

La figura 2.4b presenta las 10 medias genotípicas sobre el total de los ambientes, detectándose dos grupos de genotipos. Awalbit, Omrabi-3, Sebah, Waha y Lagost-3, localizados en la parte superior de la figura, tuvieron un alto contenido en proteína, situándose Lagost-3, con un alto peso de mil granos, en la esquina derecha (ver tabla 2.2). El otro grupo, está formado por Korifla, Mexa y Vitrón, que tienden a poseer un gluten muy fuerte (interacción positiva con el SDS). La variedad comercial Altar-aos se caracterizó por su gran pigmentación amarillenta y sus granos muy vítreos, mientras que Jabato demostró tener valores medios para todos los parámetros, a excepción del volumen SDS, donde presentó valores muy bajos.

### ***3.4. Estudio de relaciones entre los diferentes parámetros de calidad***

#### **3.4.1. Correlaciones genéticas y fenotípicas**

Las correlaciones genéticas calculadas a partir de las covarianzas y varianzas genéticas se muestran en la parte superior de la matriz de correlaciones (tabla 2.3). El peso de mil granos estuvo negativamente correlacionado con el peso específico ( $r = -0,624$ ) y la vitrosidad ( $r = -0,990$ ). Se observa también una fuerte relación inversa entre el contenido en proteína y el volumen de sedimentación SDS ( $r = -0,717$ ). El contenido



**Figura 2.4.** Proyecciones del análisis de componentes principales (ACP) sobre los ejes 1 y 2 (Figura 2.4a y 2.4b) explicando el 64,38% de la varianza total. En la figura 2.4a, los eigenvalues de la matriz de correlaciones están simbolizados como vectores representando los caracteres que más influyen sobre cada eje. La longitud de la proyección de cada vector sobre cada eje de componentes principales mide el peso (eigenvalue) de su influencia sobre este eje, mientras que el ángulo entre cada dos vectores están inversamente proporcionado a su correlación. PMG = peso de mil granos, PE = peso específico, PROT = contenido en proteína, PIGM = contenido en pigmentos, SDS = test de sedimentación, VITR = porcentaje de vitrosidad, CENIZ = contenido en cenizas. En la figura 2.4b los 10 puntos que representan las medias genotípicas globales están ilustrados en el plano determinado por los ejes 1 y 2.

en pigmentos estuvo positivamente relacionado a la vitrosidad ( $r = 0.564$ ). Las otras correlaciones fueron relativamente moderadas y se destaca entre ellas la relación positiva entre el peso específico y el contenido en proteína ( $r = 0,454$ ), el contenido en pigmentos ( $r = 0,437$ ) y la vitrosidad ( $r = 0,404$ ).

A partir de las covarianzas y varianzas fenotípicas se calcularon las correlaciones fenotípicas entre el conjunto de variables, cuyos resultados se presentan en la parte inferior de la matriz de correlaciones (tabla 2.3). En general, la magnitud de las correlaciones fue relativamente baja, con excepción de las relaciones negativas del peso de mil granos con el contenido en pigmentos ( $r = -0,467$ ) y con la vitrosidad ( $r = -0,419$ ).

Tabla 2.3. Matriz de correlaciones genéticas (parte superior) y fenotípicas (parte inferior) entre los diferentes parámetros de calidad de 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

	†PMG	PE	PROT	PIGM	SDS	VITR	CENIZ
PMG		-0,624***	0,008	-0,054	-0,007	-0,990***	-0,110
PE	-0,101		0,454*	0,437*	-0,248	0,404	0,075
PROT	-0,129	-0,071		-0,331	-0,717***	-0,287	0,538**
PIGM	-0,467**	0,133	0,001		0,133	0,564**	0,240
SDS	-0,100	-0,178	-0,291	0,104		-0,037	-0,239
VITR	-0,419**	0,260	-0,067	0,143	0,046		0,422*
CENIZ	-0,134	-0,144	0,258	0,170	-0,081	-0,067	

† PMG = peso de mil granos; PE = peso específico; PROT = contenido en proteína; PIGM = contenido en pigmentos; SDS = volumen de sedimentación; VITR = vitrosidad; CENIZ = contenido en cenizas.

### 3.4.2. Análisis por coeficientes de sendero

El análisis de senderos se realizó sobre la matriz de correlaciones entre los diferentes parámetros de calidad, que se calcularon en función de las medias genotípicas

generales y en cada ambiente. Los resultados obtenidos para los efectos directos e indirectos se presentan en la tabla 2.4.

Utilizando las medias genotípicas, se manifiestan los elevados efectos directos que ejercen el volumen SDS y el contenido en cenizas ( $P_{36} = -0,594^*$  y  $P_{56} = 0,414$ ) sobre el contenido en proteína, ya que para ambos factores, los efectos indirectos no fueron de mucha importancia.

El PMG tiene un efecto directo significativo y negativo sobre el contenido en proteína ( $P_{16} = -1,290^*$ ), que no era patente al estudiar el coeficiente de correlación, que es bastante bajo ( $r_{16} = -0,029$ ). Ello es consecuencia del alto efecto indirecto positivo que ejerce el PMG vía vitrosidad de grano ( $r_{14} P_{46} = +1,054$ ), ya que estos dos parámetros están negativamente correlacionados ( $r_{14} = -0,864^{***}$ ) y, además, la vitrosidad ejerce un efecto directo negativo sobre el contenido en proteína ( $P_{46} = -1.219^*$ ). De esta forma, a más PMG menos vitrosidad y más proteína.

La misma interpretación se puede decir en el caso de la vitrosidad, ya que interactúa mutuamente con el PMG en su relación con el contenido en proteína. La baja correlación de la vitrosidad con el contenido en proteína estaba enmascarada por el efecto positivo indirecto ( $r_{14} P_{16} = +1,114$ ) que ejerce la vitrosidad vía el PMG. El efecto directo fue negativo, significativo y de mayor magnitud ( $P_{46} = -1.219^*$ ).

El contenido en pigmentos tiene un efecto directo negativo sobre el contenido en proteína ( $P_{26} = -0,392$ ), pero ejerce un efecto indirecto positivo vía el PMG ( $r_{12} P_{16} = +0,680$ ) y un efecto indirecto negativo vía vitrosidad ( $r_{24} P_{46} = -0,528$ ). De esta forma, por una parte, al aumentar el contenido en pigmentos se reduce el PMG ( $r_{12} = -0,527^{**}$ ), mientras que aumenta el contenido en proteína. Por otro lado, cuando aumenta el contenido en pigmentos también lo hace la vitrosidad ( $r_{24} = +0,433^*$ ), mientras que disminuye el contenido en proteína. Se demuestra, por tanto, que la relación del contenido en pigmentos con el contenido en proteína está en un balance entre sus efectos indirectos vía PMG y vitrosidad y su efecto directo.

Dentro de cada ambiente, los efectos directos e indirectos fueron de baja magnitud y no significativos, salvo el efecto directo del volumen SDS ( $P_{36} = -1,021^*$ ) y del contenido en cenizas ( $P_{56} = 0,684^*$ ) sobre el contenido en proteína en el ambiente de Secano de Granada.

**Tabla 2.4.** Valores de los efectos directos e indirectos para cada uno de los parámetros de calidad sobre el contenido en proteína en 10 genotipos de trigo duro cultivados en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

	Genotipos	Jerez	CIFA	Ochíchar	
<b>Peso de mil granos vs proteína:</b>					
Efecto directo,	$P_{16}$	<b>-1,290</b>	<b>-0,262</b>	<b>-0,885</b>	<b>0,008</b>
Efecto indirecto vía					
Pigmentos,	$r_{12}P_{26}$	0,207	0,096	0,132	-0,036
Volumen SDS,	$r_{13}P_{36}$	0,045	0,068	0,742	-0,047
Vitrosidad,	$r_{14}P_{46}$	1,054	0,055	0,012	0,065
Cenizas,	$r_{15}P_{56}$	-0,044	0,010	-0,030	-0,052
Total,	$r_{16}$	<b>-0,029</b>	<b>-0,034</b>	<b>-0,030</b>	<b>-0,061</b>
<b>Pigmentos vs proteína:</b>					
Efecto directo,	$P_{26}$	<b>-0,392</b>	<b>-0,135</b>	<b>-0,315</b>	<b>-0,078</b>
Efecto indirecto vía					
Peso de mil granos,	$r_{12}P_{16}$	0,680	0,185	0,370	0,004
Volumen SDS,	$r_{23}P_{36}$	-0,077	-0,022	-0,461	-0,110
Vitrosidad,	$r_{24}P_{46}$	-0,528	-0,009	-0,008	-0,316
Cenizas,	$r_{25}P_{56}$	0,075	0,003	0,135	0,232
Total,	$r_{26}$	<b>-0,242</b>	<b>0,022</b>	<b>-0,279</b>	<b>-0,269</b>
<b>Volumen SDS vs proteína:</b>					
Efecto directo,	$P_{36}$	<b>-0,594</b>	<b>-0,525</b>	<b>-0,169</b>	<b>-1,021</b>
Efecto indirecto vía					
Peso de mil granos,	$r_{13}P_{16}$	0,097	0,027	0,064	0,000
Pigmentos,	$r_{12}P_{26}$	-0,051	-0,002	-0,015	-0,024
Vitrosidad,	$r_{34}P_{46}$	0,020	-0,010	-0,118	0,311
Cenizas,	$r_{35}P_{56}$	-0,065	0,013	-0,337	0,257
Total,	$r_{36}$	<b>-0,593</b>	<b>-0,497</b>	<b>-0,575</b>	<b>-0,477</b>
<b>Vitrosidad vs proteína:</b>					
Efecto directo,	$P_{46}$	<b>-1,219</b>	<b>-0,101</b>	<b>-0,846</b>	<b>-0,560</b>
Efecto indirecto vía					
Peso de mil granos,	$r_{14}P_{16}$	1,114	0,176	0,777	0,001
Pigmentos,	$r_{24}P_{26}$	-0,170	-0,029	-0,172	-0,015

Volumen SDS,	$r_{34}P_{36}$	0,010	-0,054	-0,023	0,566
Cenizas,	$r_{45}P_{56}$	0,065	-0,007	0,131	-0,109
Total,	$r_{46}$	<b>-0,201</b>	<b>-0,014</b>	<b>-0,133</b>	<b>-0,118</b>
<b>Cenizas vs proteína:</b>					
Efecto directo,	$P_{56}$	<b>0,414</b>	<b>-0,059</b>	<b>0,698</b>	<b>0,684</b>
Efecto indirecto vía					
Peso de mil granos,	$r_{15}P_{16}$	0,138	0,044	0,038	-0,001
Pigmentos,	$r_{25}P_{26}$	-0,071	0,007	-0,061	-0,026
Volumen SDS,	$r_{35}P_{36}$	0,093	-0,012	-0,159	0,090
Vitrodidad,	$r_{45}P_{46}$	-0,190	0,120	0,082	-0,384
Total,	$r_{56}$	<b>0,383</b>	<b>0,101</b>	<b>0,598</b>	<b>0,363</b>
Residual,	$P_{U6}$	<b>0,334</b>	<b>0,859</b>	<b>0,508</b>	<b>0,422</b>

#### 4. DISCUSIÓN

La influencia ambiental fue determinante para muchos parámetros de calidad, lo que determina que la estabilidad de tales parámetros sea un objetivo primordial en los programas de mejora para la zona de estudio. Nuestros resultados confirmaron algunos trabajos previos realizados en España (Michelena *et al.*, 1995b; Juan-Aracil y Michelena, 1995) y en Italia (Novaro, *et al.*, 1997), donde se encontró que el efecto del año, del ambiente y su interacción explicó la mayor variación observada en sus resultados.

Las interacciones genotipo  $\times$  ambiente también fueron muy significativas, aunque de baja magnitud, indicando la diferencia en el comportamiento de cada genotipo de un ambiente a otro y entre años. La magnitud de la interacción genotipo  $\times$  ambiente ha sido evaluada en muchos estudios análogos al nuestro. Así, Ames *et al.* (1999) concluyeron que la interacción genotipo  $\times$  ambiente fue decisiva en la determinación del contenido en proteína, pero no tan importante para determinar las medidas asociadas con la fuerza del gluten, como el test de sedimentación SDS.

Resultados similares se encontraron en los trabajos de Baezinger *et al.* (1985) en trigo blando y de Mariani *et al.* (1995) en trigo duro.

La determinación genética de los parámetros estudiados fue importante para el contenido en pigmentos y el test de sedimentación SDS, y relativamente moderada para la vitrosidad y el peso específico. Nuestros resultados confirmaron la dependencia genotípica de estos parámetros de calidad encontrada en varios trabajos. En efecto, Novaro *et al.* (1997) señalaron que el efecto varietal fue determinante para el peso específico y el test de sedimentación SDS. Michelena *et al.* (1995a) encontraron también que el contenido en pigmentos y el test SDS presentaron un elevado componente genético. Los parámetros de calidad que estuvieron influidos por el efecto genotípico también presentaron elevados valores de heredabilidad, concordando con resultados de Matsuo *et al.* (1982), Autran *et al.* (1986), Nachit *et al.* (1995) y Michelena *et al.* (1995a), por lo que estos parámetros aparecen como fundamentales en la selección de variedades de calidad para esta zona.

Durante los tres años de estudio, los ambientes de secano permitieron obtener buenos valores para la mayoría de los parámetros de calidad, indicando la ventaja que ofrecen estos ambientes en cuanto a la producción de trigos con buena calidad. La comparación de nuestros resultados con los encontrados en el norte (Michelena *et al.*, 1995a), indica que, para parámetros tan importantes como el peso específico o la vitrosidad, las condiciones del sur de España ofrecen mejores condiciones de cultivo. Parece ser que los altos valores de temperatura y radiación solar características del sur de España ayudan a producir trigo duro de buena calidad. En efecto, en la zona mediterránea, este cereal se cultiva principalmente bajo condiciones de sequía, lo que hace que el rendimiento sea impredecible, pero ofrece la oportunidad para la producción de trigos con alta calidad (Borghetti *et al.*, 1997). Entre los dos secanos estudiados en este trabajo, Jerez favoreció la obtención de valores altos en todos los parámetros de calidad sobre todo en la fuerza del gluten, carácter que no se expresó bien en el secano de Granada. De esto se deduce que, para la obtención de variedades con buena calidad, el clima de Jerez es muy idóneo como ambiente de selección, ya que parece estimular una

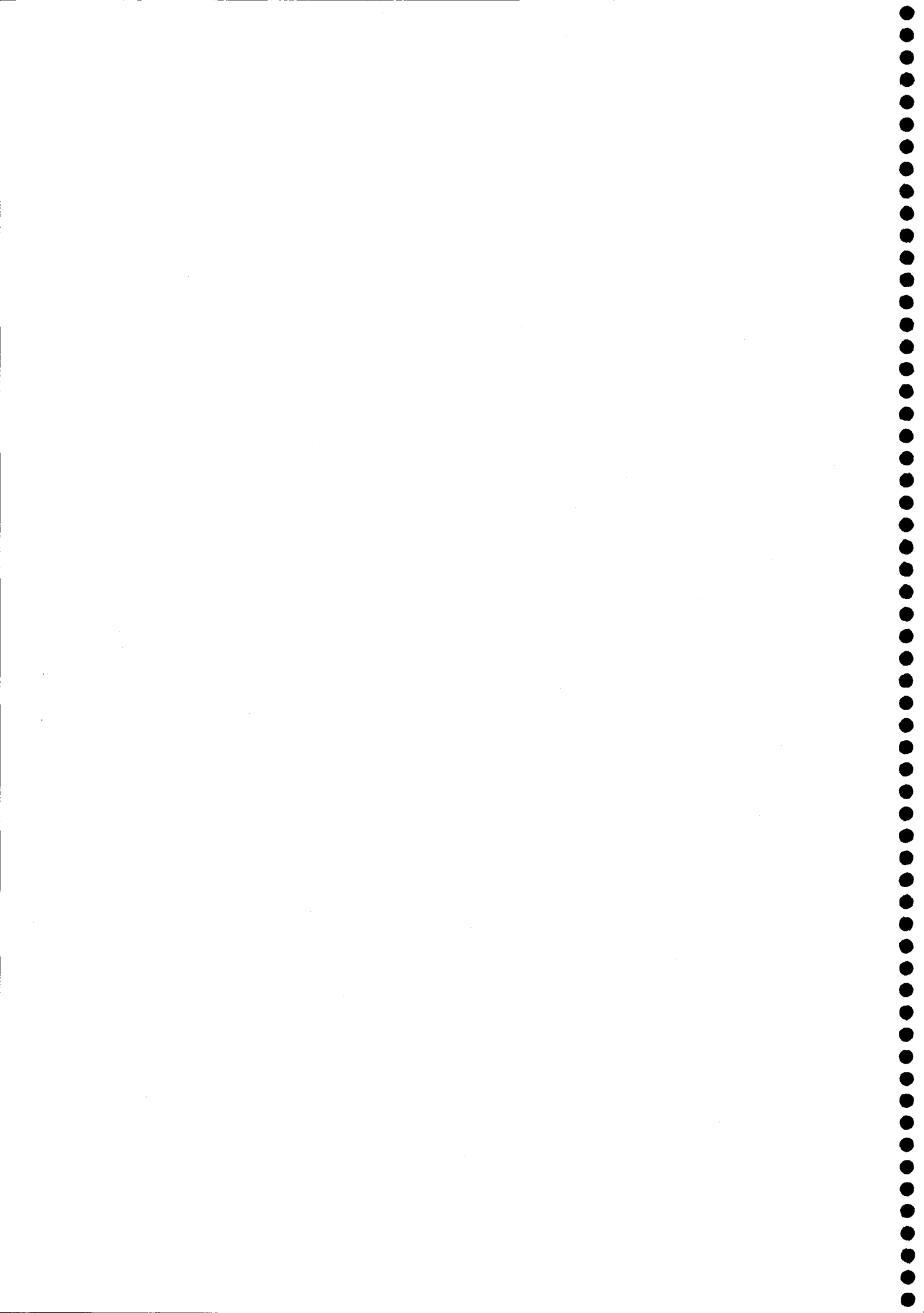
mayor expresión del potencial genético y favorece la manifestación de todos los parámetros de calidad en condiciones óptimas.

Los genotipos estudiados, en general, mostraron buenos valores de calidad, ofreciendo la oportunidad de poder ser utilizados como parentales en programas de selección para calidad en el ambiente mediterráneo. La única desventaja que presentaron fue la falta de pigmentación amarilla, que se observó en todos los ensayos de los tres años. Esto puede ser explicado, quizás, por las condiciones agronómicas del cultivo (dosis y época de la fertilización, características del suelo, etc.) que afectaron a la expresión del color amarillo en estos genotipos. Aun así, la variedad comercial Altar-aos se distinguió por valores aceptables de contenido en pigmentos, lo que indica su interés para la industria de transformación del trigo duro. En cuanto al contenido en proteína y a la fuerza del gluten (evaluada mediante el test de sedimentación SDS), claramente se diferenciaron dos grupos de genotipos. Awalbit, Omrabi-3, Sebah, Waha y Lagost-3 presentaron unos altos contenidos en proteína, mientras que Korifla, Mexa y Vitrón tuvieron mayor fuerza del gluten. Esto indica un potencial genético elevado entre estos genotipos para la selección de uno u otro parámetro de calidad.

El conocimiento de las relaciones entre los parámetros de calidad y de sus interacciones tiene importancia para averiguar el efecto que la modificación de uno de ellos puede ejercer sobre los demás, ayudando a diseñar la mejor combinación posible de parámetros de calidad, dentro de los niveles recomendados por los semoleros y los fabricantes de pasta. En nuestro estudio, se han encontrado correlaciones importantes entre varios parámetros. Entre ellas destaca la relación positiva del peso específico con el contenido en proteína. Esta relación se explica por el hecho que las condiciones climáticas que conducen a altas concentraciones en proteína pueden tener un efecto positivo sobre el peso específico, a causa del aumento en la densidad de los granos (Gooding y Davies, 1997). Un aumento en el contenido en proteína conduce a una alta densidad dentro del grano, a causa del mayor empaquetamiento de las proteínas en los espacios existentes entre los gránulos del almidón (Pushman y Bingham, 1975). La vitrosidad estuvo correlacionada positivamente con el contenido en pigmentos. Nuestros resultados están de acuerdo con los obtenidos por Kaan *et al.* (1995), quienes

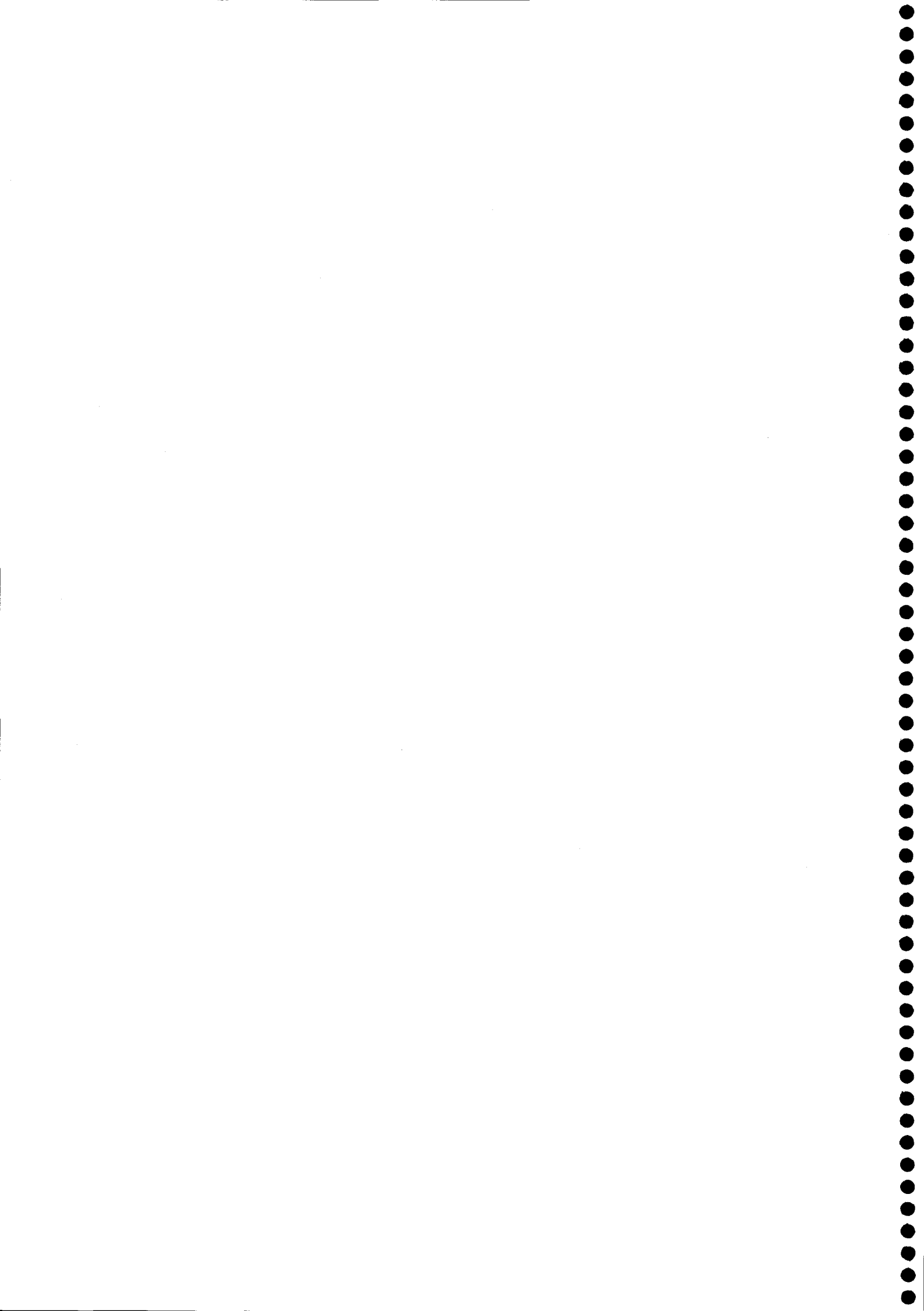


encontraron una relación negativa entre el contenido en  $\beta$ -carotenos y el porcentaje de granos harinosos. La diferencia entre los grupos de genotipos, que reveló el análisis de componentes principales, reside en la relación negativa encontrada entre el contenido en proteína y el test de sedimentación SDS. Esta relación negativa se observó también en el trabajo de Michelena *et al.* (1995a). Asimismo, Graybosh *et al.* (1995) encontraron que el volumen de sedimentación SDS estuvo negativamente asociado con el número de horas con temperatura superior a 32 °C y con humedad relativa inferior al 40% durante el llenado del grano (condiciones que en nuestra zona de estudio aumentan el contenido en proteína). Temperaturas excesivamente altas y humedades relativas bajas durante el llenado del grano, aunque incrementan la concentración de proteína en el grano, reducen la fuerza del gluten y su calidad (Blumenthal *et al.*, 1991).





# CAPÍTULO 3



## 1. INTRODUCCIÓN

La fase del llenado del grano es una de las más críticas del ciclo del cultivo, ya que de ella depende el producto económico en los cereales (el rendimiento en grano). Esta fase determina el peso final del grano, el último de los componentes del rendimiento, cuya magnitud depende tanto de la velocidad del crecimiento (o tasa de acumulación de materia seca en el grano), como de la duración del periodo de llenado del grano. Por tanto, el conocimiento detallado de los procesos que condicionan el desarrollo del grano puede ser útil para la mejora genética del trigo duro.

Después de la fecundación, y durante un corto periodo de tiempo, tiene lugar un periodo de latencia que precede al incremento lineal de la materia seca en el grano. A este periodo latente se le atribuye una gran importancia, relacionándose positivamente su duración con el número de granos formados en cada inflorescencia. Después del periodo latente, el grano se forma a lo largo de tres etapas. La primera es de multiplicación celular activa. El grano crece rápidamente, incrementando su volumen y peso en agua y materia seca, hasta alcanzar su longitud definitiva al final de la misma (López Bellido, 1990). El número de células del endospermo que se forman durante este periodo determina el tamaño potencial del grano (Brocklehurst, 1977). La segunda etapa es de acumulación de carbohidratos y proteínas. Se almacenan en el endospermo las reservas hidrocarbonadas y proteicas, el incremento en peso seco del grano es casi lineal y su contenido de humedad permanece estable. Durante esta etapa, la tasa del llenado del grano se mantiene aproximadamente constante y depende de las condiciones del crecimiento (Sofield *et al.*, 1977a; Simmons y Crookston, 1979) y del genotipo (Gleadow *et al.*, 1982; Gebeyehou *et al.*, 1982b). La etapa final se inicia cuando concluye la migración de reservas y el contenido en agua es de 40-50% del peso fresco (López Bellido, 1990). Esta fase coincide con el máximo de la biomasa seca en el grano y se denomina también madurez fisiológica.

El peso final del grano es el resultado de los fenómenos de transporte y depósito de los asimilados desde las zonas de síntesis o de almacenamiento provisional; de las

características del transporte (abastecimiento del floema, distribución, velocidad de circulación y descarga); y de los lugares de depósito o de recepción (óvulos fecundados).

El número de granos por unidad de superficie es un indicador importante de la capacidad acumulativa de la espiga, y el rendimiento final depende en gran medida de las variaciones en este parámetro. La utilización óptima de los asimilados no depende solamente de la rapidez de crecimiento del grano, sino también de un adecuado número de granos por unidad de superficie. La relación entre la capacidad de producción de granos y la facultad de llenarlos adecuadamente, resulta de la mayor importancia en la determinación del rendimiento de grano en los cereales, por lo que el análisis de sus diferentes aspectos puede ayudar a obtener mejores resultados en el área mediterránea.

En Biología Vegetal, las funciones matemáticas son útiles para obtener una explicación cuantitativa del crecimiento de las plantas. Para la fase del llenado del grano se ha utilizado muchas ecuaciones matemáticas para describir las curvas del crecimiento del grano en función del tiempo. Así, Nass y Reiser (1975), y Bruckner y Frohberg (1987) usaron ecuaciones cuadráticas para estudiar el llenado del grano. Gebeyehou *et al.* (1982a) encontraron una función polinomial cúbica que describe adecuadamente el llenado del grano en el trigo duro. Darroch y Baker (1990) utilizaron una función logística de 3 términos:

$$y = W/[1+\exp(B - Cx)]$$

donde  $y$  es el peso del grano;  $W$  estima el peso final del grano;  $B$  está relacionada tanto con la duración como con la tasa del llenado del grano;  $C$  está relacionada con la tasa del llenado del grano; y  $x$  son los grados días acumulados desde antesis.

Recientemente, Panozzo y Eagles (1999) han utilizado una modificación de la ecuación de Darroch y Baker, añadiendo un cuarto término ( $A$ ) que permite el cálculo de una asíntota diferente de cero:

$$y = A + C/[1+\exp(-B(x-M))]$$

El análisis por coeficientes de sendero permite identificar la influencia directa de las variables independientes sobre la dependiente en un sistema múltiple, cuando las variables independientes están, a su vez, relacionadas entre sí. Un coeficiente de sendero es un coeficiente de regresión parcial tipificado, obtenido a partir de ecuaciones donde todas las variables se expresan como desviaciones de la media en unidades de desviación estándar (Li, 1956; Steel y Torrie, 1982). Los coeficientes de sendero han sido utilizados para aclarar las relaciones entre el rendimiento en grano y muchos caracteres en trigo blando (Bhatt, 1973; Gebeyehou *et al.*, 1982a; Rojo y García del Moral, 1986); cebada (Tewari, 1976; Hamid y Grafius, 1978; Pury *et al.*, 1982; García del Moral *et al.*, 1991); y patatas (De la Morena *et al.*, 1994). Este método de análisis se ha utilizado también para estudiar la relación en cebada entre la producción de grano y la biomasa, el índice de área foliar y la duración del área foliar (Ramos *et al.*, 1989), y los efectos de las condiciones adversas sobre los componentes del rendimiento (Campbell *et al.*, 1980). Una descripción pormenorizada del análisis por coeficientes de sendero se presenta en el Capítulo 5.

Los objetivos de este capítulo han consistido en:

- (i) Modelizar el crecimiento del grano en los ambientes de secano y regadío.
- (ii) Analizar los distintos parámetros del llenado del grano
- (iii) Estudiar la relación de los parámetros del llenado del grano con el rendimiento y el contenido en proteína

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal, ensayos y prácticas agronómicas se han descrito detalladamente en el Capítulo 1. Este estudio ha sido desarrollado solamente en los ambientes del CIFA (regadío) y Ochíchar (secano) de la provincia de Granada.

## 2.1 Metodología experimental

### *Crecimiento del grano:*

En el momento de la antesis, se etiquetaron 50 espigas de tallos principales por parcela en tres de las cuatro repeticiones dentro de cada ensayo. Semanalmente y desde la antesis hasta la madurez, se recogieron 5 espigas por parcela, de las que se tomaron seis granos de las espiguillas centrales de cada espiga. Los granos se secaron en la estufa a 70°C durante 48 horas para determinar el peso seco.

### *Fenología:*

la fecha de antesis se estimó como la aquella en que el 50% de las espigas en cada parcela presentaban las anteras visibles en su base. Se determinó la duración del periodo vegetativo (DSA) en grados días acumulados desde la siembra hasta la antesis. La fecha de madurez fisiológica se estimó como el momento en que ocurre el cambio al color amarillo de las espigas en el 50% de las plantas en cada parcela.

### *Rendimiento en grano y sus componentes:*

Después de la cosecha, se determinó el rendimiento en grano (Y) en kg ha<sup>-1</sup> para cada parcela y se ajustó después a una humedad del 12%. Se calcularon también el número de espigas m<sup>-2</sup> y el número de granos por espiga. Se calculó, entonces, el número de granos por m<sup>-2</sup> (NGS) como el resultante de la multiplicación de estos componentes.

### *Contenido en proteína:*

Se determinó mediante el método de Kjeldhal sobre una muestra de harina de cada parcela. El porcentaje de proteína se calculó multiplicando el contenido en nitrógeno por 5,7 y fue expresado a base seca.



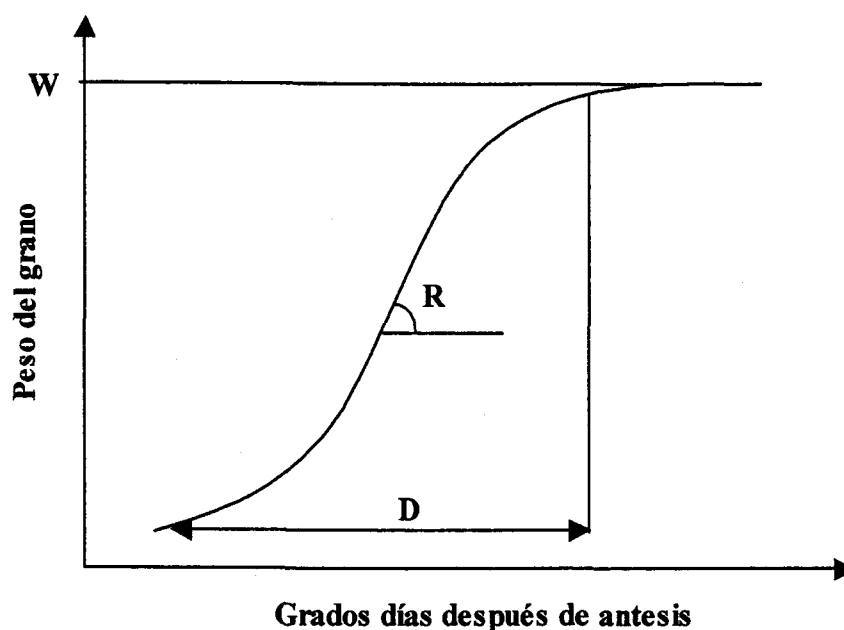
## 2.2 Análisis estadístico

### Curvas del llenado del grano:

Se usaron los datos del peso seco del grano obtenidos durante el seguimiento del crecimiento del grano. Los grados días acumulados (GDD) desde antesis fueron calculados sumando los GDD diarios que se calcularon como:

$$GDD = [(T_{\max} + T_{\min})/2] - T_b,$$

donde  $T_{\max}$  y  $T_{\min}$  son las temperaturas máximas y mínimas diarias, respectivamente, y  $T_b$  es la temperatura base. Se utilizó una temperatura base de  $0^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3.1.** Curva teórica del crecimiento del grano en función del tiempo térmico ilustrando el peso final del grano ( $W$ ), la tasa máxima ( $R$ ) y la duración del llenado del grano ( $D$ ) según la función logística propuesta por Darroch y Baker (1990).

Los datos del peso seco del grano de cada parcela fueron ajustados mediante una regresión no lineal a una curva logística (Darroch y Baker, 1990):

$$y = W/[1 + \exp(B - Cx)] \quad \text{ecuación [1]}$$

donde  $y$  es el peso del grano (mg) y  $x$  los GDD acumulados desde antesis a madurez fisiológica.

El peso final del grano ( $W$ ) se estimó de la ecuación [1] y se expresó en mg. La duración del llenado del grano ( $D$ ) se consideró como el tiempo en GDD acumulados necesario para que el peso del grano alcance  $0,95W$  y fue derivado de la curva. La tasa máxima del llenado del grano ( $R$ ) fue calculada a partir de los parámetros de la ecuación [1] y se expresó en  $\text{mg GDD}^{-1}$  o, lo que es lo mismo,  $\text{mg } (^{\circ}\text{C día}^{-1})$ . La figura 3.1 ilustra la curva teórica del llenado del grano y los distintos parámetros estimados.

#### *Análisis de la varianza:*

Se efectuaron los análisis de la varianza en cada ensayo para los tres parámetros de llenado del grano ( $W$ ,  $D$  y  $R$ ), con objeto de evaluar la importancia de cada uno de ellos en la determinación de las diferencias entre genotipos. Asimismo, se realizó un análisis de la varianza combinado para todos los ensayos, utilizando los años como factor aleatorio y los ambientes y genotipos como factores fijos, para detectar la influencia de cada uno de los tres parámetros estudiados, así como de sus interacciones, en la determinación de la variación observada en el conjunto de datos.

#### *Análisis por componentes principales:*

se realizó sobre la matriz de correlaciones calculada a partir de las medias genotípicas en cada ambiente, usando los siete caracteres siguientes: parámetros del llenado del grano ( $W$ ,  $D$  y  $R$ ); rendimiento en grano; número de granos por  $\text{m}^2$ ; duración en grados días acumulados del periodo vegetativo; y contenido en proteína.

#### *Análisis por coeficientes de sendero:*

Los coeficientes de correlación entre cada pareja de los siete caracteres anteriores se calcularon a partir de las medias de cada genotipo en años y ambientes ( $n = 60$ ). El análisis por coeficientes de sendero se realizó utilizando estos coeficientes de correlación y el método descrito por García del Moral *et al.*(1991), que divide el coeficiente de correlación  $r_{ij}$  en efectos directos e indirectos. El cálculo de los coeficientes de sendero  $P_{ij}$  (donde los subíndices indican los siete caracteres, ver figura 3.4), requiere la resolución de los 4 siguientes sistemas de ecuaciones:

$$\begin{aligned} r_{16} &= P_{16} + r_{13} P_{36} + r_{14} P_{46} + r_{15} P_{56} \\ r_{36} &= r_{13} P_{16} + P_{36} + r_{34} P_{46} + r_{35} P_{56} \\ r_{46} &= r_{14} P_{16} + r_{34} P_{36} + P_{46} + r_{45} P_{56} \\ r_{56} &= r_{15} P_{16} + r_{35} P_{36} + r_{45} P_{46} + P_{56} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{14} &= P_{14} + r_{13} P_{34} + r_{15} P_{45} \\ r_{34} &= r_{13} P_{14} + P_{34} + r_{35} P_{45} \\ r_{45} &= r_{15} P_{14} + r_{35} P_{34} + P_{45} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{15} &= P_{15} + r_{12} P_{25} + r_{13} P_{35} \\ r_{25} &= r_{12} P_{15} + P_{25} + r_{23} P_{35} \\ r_{35} &= r_{13} P_{15} + r_{23} P_{25} + P_{35} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{27} &= P_{27} + r_{23} P_{37} + r_{24} P_{47} + r_{25} P_{57} \\ r_{37} &= r_{23} P_{27} + P_{37} + r_{34} P_{47} + r_{35} P_{57} \\ r_{47} &= r_{24} P_{27} + r_{34} P_{37} + P_{47} + r_{45} P_{57} \\ r_{57} &= r_{25} P_{27} + r_{35} P_{37} + r_{45} P_{47} + P_{57} \end{aligned}$$

En la ecuación  $r_{14} = P_{14} + r_{13} P_{34} + r_{15} P_{45}$ ,  $P_{14}$  es el efecto directo del carácter 1 sobre el 4 (el coeficiente de sendero), mientras que  $r_{13} P_{34}$  es el efecto indirecto del carácter 1 sobre el 4 vía 3. Definiciones similares se aplican a las otras ecuaciones. El sistema causa-efecto empleado se construyó basándonos sobre la ontogenia de la planta del trigo y se muestra en la figura 3.4 (apartado de los resultados).

### 3. RESULTADOS

### 3.1 Ajuste de la curva del llenado del grano

Las curvas del llenado del grano para cada parcela en los diferentes ensayos se ajustaron bien a la ecuación logística descrita por Darroch y Baker (1990), con coeficientes de determinación superiores a 95%.

En la figura 3.2, se presentan las curvas ajustadas del llenado del grano para los dos ambientes (regadío y seco) durante los tres años (1998, 1999 y 2000). Los valores estimados, a partir de la ecuación logística, del peso máximo del grano ( $W$ ), la tasa máxima ( $R$ ) y la duración del llenado del grano ( $D$ ), se presentan en la tabla 3.1.

Se observaron diferencias significativas entre el regadío y el seco durante 1998 y 2000 para los tres parámetros del llenado del grano, mientras que en 1999, no hubo diferencias entre los dos ambientes (tabla 3.1 y figura 3.2). La ausencia de diferencias en 1999 fue debida a la fuerte sequía y las altas temperaturas que tuvieron lugar en aquel año durante la fase del llenado del grano (tabla 3.2) en los dos ambientes. Esto condicionó que incluso el riego que se realizó unos días después de antesis, no fuese suficiente para atenuar el efecto negativo de las altas temperaturas en el regadío. Durante este año se obtuvieron los menores pesos de los granos, debido a que las moderadas tasa de llenado no compensaron la corta duración del llenado del grano, provocada por las altas temperaturas (4 días de temperaturas máximas superiores a 35 °C en la fase final del llenado del grano). Durante los años 1998 y 2000, las temperaturas máximas no fueron tan altas en el regadío en comparación con el seco (tabla 3.2), y además se registraron más precipitaciones en el regadío que, aparte de suministrar más agua al cultivo, disminuye la temperatura de las plantas. Todo esto hizo que se reuniesen mejores condiciones en el regadío durante estos dos años para un buen desarrollo del grano, que se tradujeron en elevados pesos del grano y largas duraciones del periodo de maduración. El elevado peso del grano que se obtuvo en el seco durante el año 2000, pudo ser debido a la mayor duración del llenado del grano, causada tanto por su baja tasa de crecimiento, como por las precipitaciones que se registraron al final de la fase del llenado.

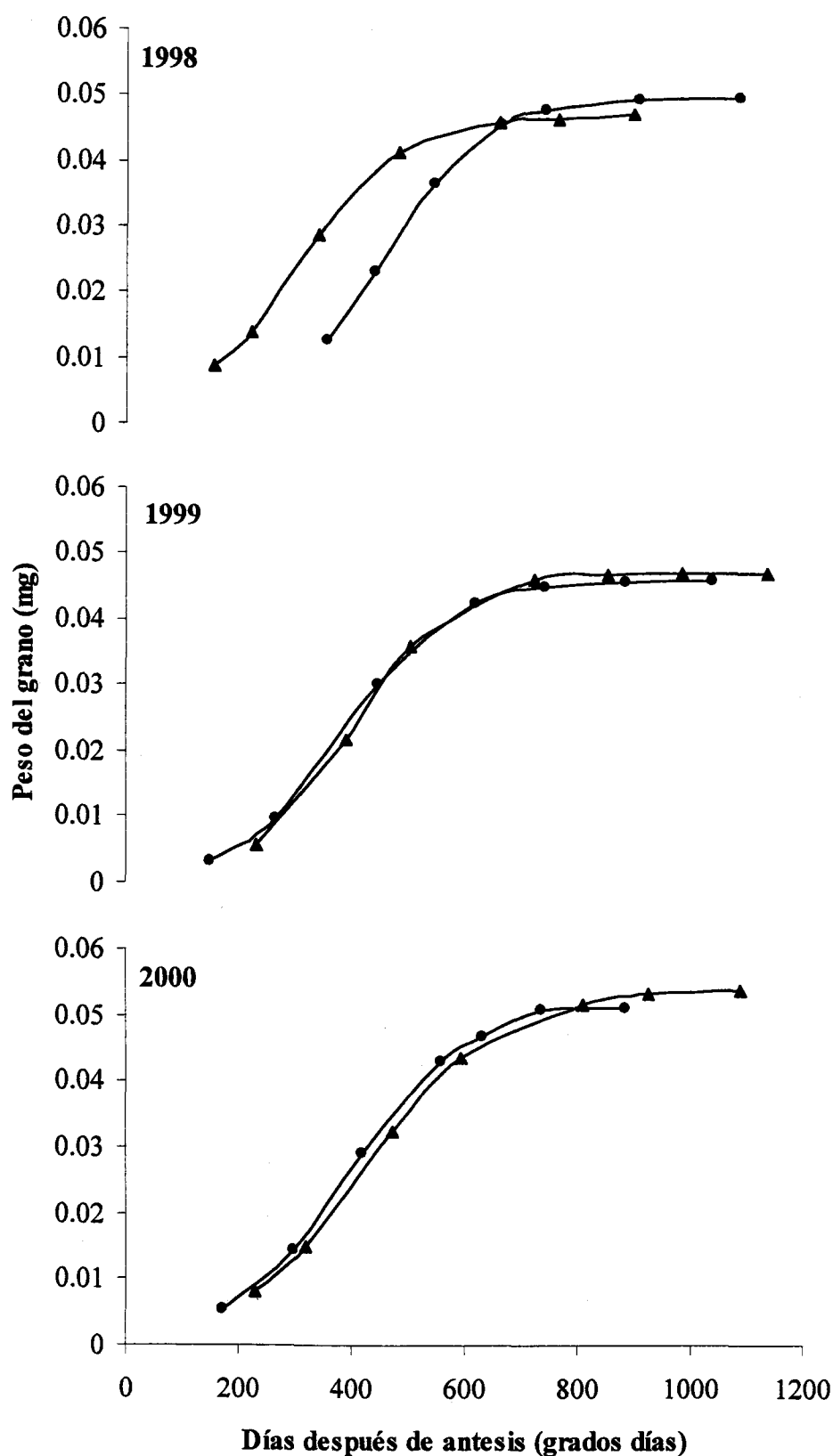


Figura 3.2 Curvas del llenado del grano durante los tres años 1998, 1999 y 2000 para el Regadío y el seco. Las líneas representan a los valores esperados después de ajustar la ecuación logística a los valores observados.

En cuanto a los valores estimados para los genotipos (tabla 3.1), la tendencia general resultó ser que aquellos genotipos que presentaron altos pesos de grano (W) tuvieron también altas tasas de llenado (R) y relativamente largas duraciones del mismo, como, por ejemplo, Lagost-3, Mexa, Vitrón, Waha y Korifla. Los genotipos que tuvieron bajos pesos de grano combinaron altas tasas y cortas duraciones del llenado del grano, como el caso de Altar-aos, Jabato y Sebah; o bien, al contrario, combinaron bajas tasas con largas duraciones del llenado del grano (Awalbit y Omrabi-3).

### 3.2 Estudio de los parámetros del llenado del grano

El análisis de la varianza para cada ensayo (combinación de año y ambiente) de los tres parámetros del llenado del grano (W, R y D), reveló que entre genotipos (tabla 3.1), el peso final del grano (W) fue el que más determinó la variación observada. Se observaron también diferencias significativas en todos los ensayos para la tasa máxima de llenado (R). Las diferencias entre genotipos en la duración del llenado del grano (D) fueron significativas en 1998 y 2000, mientras que no hubo diferencias en 1999.

**Tabla 3.3.** Resumen del análisis de varianza para cada ensayo de los parámetros del llenado del grano de 10 genotipos de trigo duro cultivado en dos ambientes (regadío y seco) y en tres años (1998, 1999 y 2000). Se presenta la significación del factor genotipo en el modelo del ANOVA en cada ensayo.

Año	Ambiente	W		R		D	
		Signif.†	C.V‡	Signif.	C.V	Signif.	C.V
1998	Regadío	***	3,3	**	7,2	***	3,4
	Secano	**	4,4	***	7,8	***	8,1
1999	Regadío	***	7,7	*	11,7		9,1
	Secano	***	4,7	**	8,8		7,1
2000	Regadío	***	4,1	*	11,0	*	7,2
	Secano	*	4,9	**	8,1	**	5,4

† : significación del valor F de la tabla de ANOVA.

‡ : coeficiente de variación.

\*, \*\*, \*\*\*, significativo a una probabilidad de 0,05, 0,01 y 0,001, respectivamente.

**Tabla 3.1.** Valores estimados de los parámetros del llenado del grano para los diferentes combinaciones de año y ambiente y para los 10 genotipos.

		W (mg)	R (mg °C día <sup>-1</sup> )	D (°C día)
<b>Año</b>	<b>Ambiente</b>			
1998	Regadío	50,1 b†	0,1300 bc	680 b
	Secano	47,6 c	0,1433 a	547 d
1999	Regadío	47,4 c	0,1220 d	617 c
	Secano	46,3 c	0,1335 b	629 c
2000	Regadío	54,0 a	0,1239 cd	753 a
	Secano	51,3 b	0,1276 bcd	693 b
<b>Genotipo</b>				
	Altar-aos	47,1 c	0,1195 d	697 ab
	Awalbit	47,1 c	0,1308 c	612 e
	Jabato	48,0 c	0,1305 c	612 e
	Korifla	50,0 b	0,1390 ab	647 d
	Lagost-3	55,9 a	0,1449 a	655 cd
	Mexa	51,4 b	0,1274 c	678 bc
	Omrabi-3	46,8 c	0,1190 d	708 a
	Sebah	48,0 c	0,1306 c	639 de
	Vitrón	50,4 b	0,1280 c	642 d
	Waha	50,0 b	0,1312 bc	641 de

† : Dentro de las columnas y factores, valores con la misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0,05$  según el test de las mínimas diferencias significativas.

**Tabla 3.2.** Fecha de siembra, fecha media de antesis y temperatura máxima y precipitación durante el llenado del grano de las diferentes combinaciones de años y ambientes.

Año	Ambiente	Fecha de siembra	Fecha de antesis	Temperatura máxima durante el llenado del grano (°C)	Precipitación durante el llenado del grano (mm)
1998	Regadío	11/12/97	25/04/98	21,6	78,6
	Secano	12/01/98	23/05/98	28,9	31,5
1999	Regadío	15/12/98	01/05/98	28,0	59,5
	Secano	25/11/98	07/05/98	29,6	9,0
2000	Regadío	23/11/99	24/04/98	24,2	84,0
	Secano	10/12/99	02/05/98	28,3	15,0

El análisis combinado de la varianza, que se realizó después de verificar la homogeneidad de varianzas mediante el test de Bartlett, se presenta en la tabla 3.2. Para los tres parámetros, el factor ambiental (año y ambiente) explicó una gran parte de la variación observada. Las diferencias entre años no fueron significativas, pese al mayor porcentaje que aportan a la varianza total. Entre ambientes, y como era de esperar, las diferencias fueron altamente significativas en los tres parámetros. El estudio del efecto genético, tal como se observa en la tabla 3.1, confirma la fuerte dependencia genética del peso final (W) y de la tasa máxima del llenado del grano (R), ya que la variación explicada por el factor genotípico fue del 9% y 15%, respectivamente. La duración del llenado del grano, que dependió mucho de las condiciones ambientales, no resultó estar bajo control genético (variación explicada por los genotipos de sólo el 3,8%). Las interacciones entre los factores principales fueron significativas sólo en el caso de la interacción genotipo × ambiente y de la interacción triple año × ambiente × genotipo.

**Tabla 3.4.** Cuadrados medios del análisis combinado de varianza para los parámetros del llenado del grano 10 genotipos de trigo duro cultivado en dos ambientes (regadío y seco) y en tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	W	R ( $\times 10^{-4}$ )	T ( $\times 10^3$ )
Año	2	522,8	20,1	220,3
Ambiente	1	194,1 ***	40,9 ***	163,3 ***
Genotipo	9	139,1 ***	10,9 ***	19,0 ***
Bloque (Y×E)	12	5,0	1,8	2,9
Y × E	2	12,2	3,7	78,5
Y × G	18	21,8	6,5	7,7
E × G	9	16,3 **	4,6 **	7,3 ***
Y × E × G	18	23,7 ***	6,9 ***	6,0 ***
Error	108	6,2	1,4	2,0
Total	179			

Y = Año, E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.



### **3.3 Relación de los parámetros del llenado del grano con el rendimiento y el contenido en proteína**

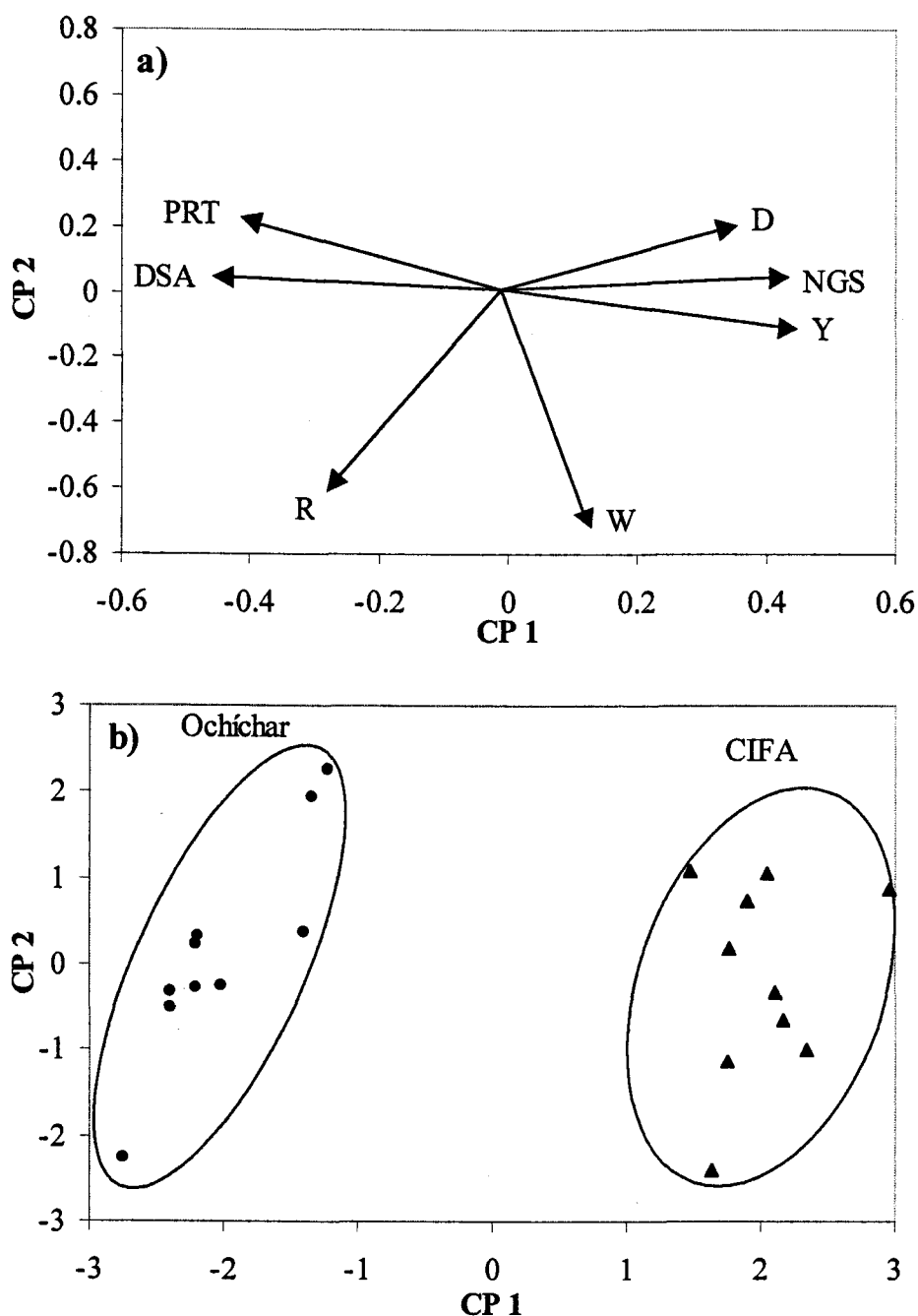
#### **3.3.1 Análisis por componentes principales**

En la figura 3.3 se presentan los resultados del análisis por componentes principales de los tres parámetros del llenado del grano (W, R y D), del rendimiento en grano (Y), del número de granos por m<sup>2</sup> (NGS), de la duración en grados días del periodo vegetativo (DSA) y del contenido en proteína.

Los dos primeros ejes explicaron el 84,3% de la varianza total: 63,9 y 20,4% para el primer y el segundo eje, respectivamente. Dado que la mayor parte de la variación observada pudo ser atribuida solamente a los dos primeros ejes, se presentan las proyecciones de los datos sobre el plano constituido por los ejes 1 y 2 (figura 3.3). La figura 3.3a presenta los eigenvectores de los caracteres que más influyeron sobre cada eje. La figura 3.3b ilustra las proyecciones sobre el plano 1-2 de los 20 puntos que representan la media de los 10 genotipos en cada ambiente (regadío y secano).

En la dirección positiva del eje 1, aparecen el rendimiento en grano, el número de granos por m<sup>2</sup> y la duración del llenado del grano. En el lado opuesto a este grupo de caracteres, con los que encuentran negativamente correlacionados, se sitúan el contenido en proteína y la duración del periodo vegetativo. Bajos las condiciones de nuestro estudio, los mejores rendimientos se obtuvieron gracias a un mayor número de granos por m<sup>2</sup> y larga duración del llenado del grano. Los incrementos en el contenido en proteína se ven favorecidos por una fase larga del periodo vegetativo.

El eje 2 se ve influido, mayoritariamente, por los dos restantes parámetros del llenado del grano (peso final y tasa máxima del llenado del grano). Estos dos parámetros se encuentran en la dirección negativa de este eje y están positivamente correlacionados, pues el incremento en el peso del grano fue debido a un aumento en la velocidad del llenado del grano.



**Figura 3.3.** Proyecciones del análisis de componentes principales (ACP) sobre los ejes 1 y 3 (Figura 3.3a y 3.3b) explicando el 84,3% de la varianza total. En la figura 3.3a, los eigenvalues de la matriz de correlaciones están simbolizados como vectores representando los caracteres que más influyen sobre cada eje. La longitud de la proyección de cada vector sobre cada eje de componentes principales mide el peso (eigenvalue) de su influencia sobre este eje, mientras que el ángulo entre cada dos vectores están inversamente proporcionado a su correlación. Y = rendimiento en grano, NGS = número de granos por  $m^2$ , PRT = contenido en proteína, DSA = duración de la fase vegetativa en grados días, D = duración del llenado del grano en grados días, R = tasa del llenado del grano, W = peso máximo del grano. En la figura 3.3b los 20 puntos que representan las medias genotípicas para cada ambiente (CIFA y Ochíchar) están ilustrados en el plano determinado por los ejes 1 y 2.

En la figura 3.3b, se observa la clara separación de los dos ambientes sobre el primer eje: el regadío que interacciona positivamente con este eje y el secano que se encuentra en la dirección negativa. Sobre el segundo eje, y en los dos ambientes, se observa una fuerte dispersión de los genotipos en ambas direcciones de este eje.

El ambiente de regadío se caracterizó, tal y como era de esperar, por altos rendimientos, mayores números de granos por  $m^2$  y largas duraciones del llenado del grano. Sin embargo, el secano favoreció mayores contenidos en proteína y largas duraciones del periodo vegetativo. Los genotipos debieron sus diferencias al peso final del grano en el regadío y a la tasa máxima del llenado del grano en el secano.

### 3.3.2 Análisis por coeficientes de sendero

El análisis por coeficientes de sendero se realizó según un diagrama ontogénico basado en la fenología del cultivo y en la formación secuencial de los componentes del rendimiento. Así, el número de granos por  $m^2$  (que es el producto del número de espigas por  $m^2$  y del número de granos por espiga), presenta una relación recíproca con la duración del periodo vegetativo (figura 3.4, flecha con doble sentido), porque ambos caracteres pueden interactuar durante las primeras etapas del desarrollo del trigo. La proliferación de los tallos y la determinación del número potencial de granos en la espiga son procesos que finalizan pocos días después de anthesis, por lo que el número de granos por  $m^2$  ejerce su efecto sobre la tasa máxima del llenado del grano, la duración del mismo y el peso final del grano. Durante la fase del desarrollo de los granos, la tasa máxima de llenado determina la duración del crecimiento del grano, así como su peso final. Como factores dependientes se han considerado el rendimiento en grano y su contenido en proteína, ya que estos dos caracteres interaccionan mutuamente al competir entre sí por los asimilados fotosintéticos durante su determinación.

Los efectos directos (coeficientes de sendero) que se presentan en la figura 3.4 muestran que el rendimiento en grano se ve determinado en gran parte por el número de grano por  $m^2$  ( $P_{16} = 0,540^{***}$ ). La duración del llenado del grano tuvo un efecto directo

y positivo sobre el rendimiento en grano ( $P_{56} = 0,431^{**}$ ). El peso final del grano también afectó positivamente al rendimiento en grano, aunque con menos importancia cuantitativa en comparación con los dos primeros caracteres. El contenido en proteína se ve afectado de igual forma por el peso final del grano ( $P_{47} = -0,342^*$ ) y la duración del periodo vegetativo ( $P_{27} = 0,396^{**}$ ). La relación positiva entre el contenido en proteína y la duración del periodo vegetativo se debe, en gran parte, a la relación inversa que tiene este último carácter con el rendimiento en grano ( $r_{26} = -0,448^{***}$ ) y, al mismo tiempo, a la correlación negativa ( $r_{67} = -0,724^{***}$ ) que existe entre el rendimiento en grano y el contenido en proteína (tabla 3.5). En la figura 3.4, se observa también el efecto negativo que ejerce la duración del periodo vegetativo sobre la duración del llenado del grano ( $P_{25} = -0,322^*$ ). El peso máximo del grano se ve afectado mayoritariamente por la duración del llenado del grano ( $P_{45} = 0,825^{***}$ ). La tasa máxima también tuvo un efecto positivo sobre este carácter ( $P_{34} = 0,549^{***}$ ) pero influyó negativamente sobre la duración del llenado del grano ( $P_{35} = -0,419^{***}$ ).

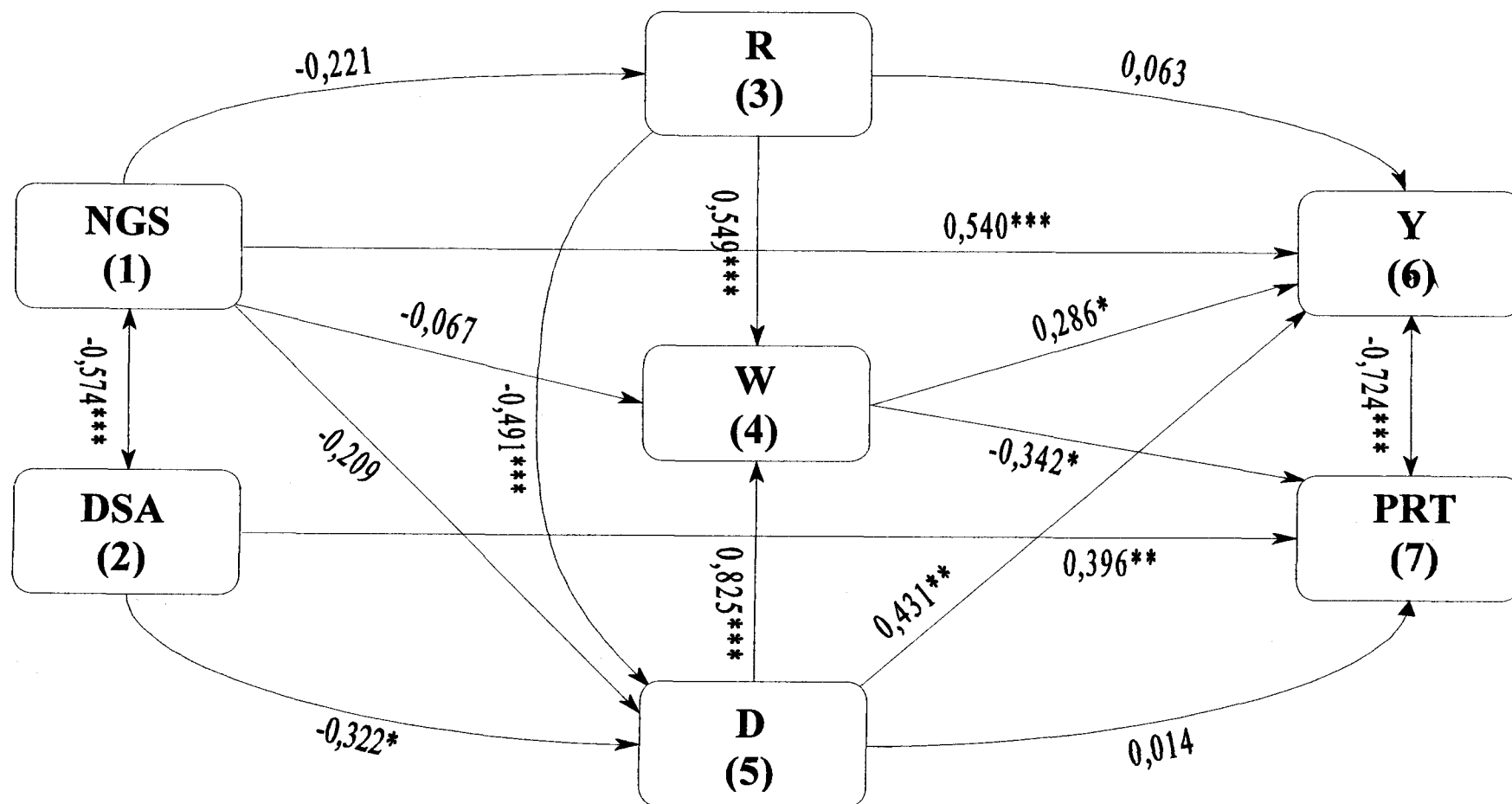
**Tabla 3.5.** Coeficientes de correlación entre siete caracteres de 10 genotipos cultivados en regadío y secano durante 1998, 1999 y 2000 ( $n = 60$ ).

	DSA	R	W	D	Y	PRT
NGS	-0,574 <sup>***</sup>	-0,221	-0,119	0,084	0,529 <sup>***</sup>	-0,355 <sup>**</sup>
DSA		0,356 <sup>**</sup>	-0,148	-0,376 <sup>**</sup>	-0,448 <sup>***</sup>	0,504 <sup>***</sup>
R			0,313 <sup>*</sup>	-0,559 <sup>***</sup>	-0,268 <sup>*</sup>	0,232
W				0,512 <sup>***</sup>	0,449 <sup>***</sup>	-0,363 <sup>**</sup>
D					0,587 <sup>***</sup>	-0,444 <sup>***</sup>
Y						-0,724 <sup>***</sup>

NGS = número de granos por  $m^2$ , DSA = duración de la fase vegetativa en grados días, R = tasa del llenado del grano, W = peso máximo del grano, D = duración del llenado del grano en grados días, Y = rendimiento en grano, PRT = contenido en proteína.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

Los coeficientes de sendero sirvieron realmente para estimar el peso que tiene cada carácter sobre el otro mediante sus efectos directos, ya que, en comparación con los coeficientes de correlación (tabla 3.5), no modificaron la información obtenida salvo en dos casos. De esta forma, la correlación negativa ( $r_{36} = -0,268^*$ ) que ejerce la tasa máxima del llenado del grano sobre el rendimiento, se ha debido a su efecto indirecto vía duración del llenado del grano, ya que un incremento en la tasa máxima resulta en una menor duración del llenado del grano, reduciendo el rendimiento final. También el



**Figura 3.4.** Diagrama de coeficientes de sendero mostrando las interrelaciones de siete caracteres de trigo duro cultivado en dos ambientes (regadío y seco) durante tres años (1998, 1999, 2000). Las flechas de doble sentido indican los coeficientes de correlación; las flechas de único sentido indican los coeficientes de sendero. \*, \*\*, \*\*\* significativo a  $P = 0,05$ ,  $0,01$  y  $0,001$ , respectivamente. NGS = número de granos por  $m^2$ , DSA = duración de la fase vegetativa en grados días, R = tasa del llenado del grano, W = peso máximo del grano, D = duración del llenado del grano en grados días, Y = rendimiento en grano, PRT = contenido en proteína.

efecto negativo de la duración del llenado del grano sobre el contenido en proteína ( $r_{57} = -0,444^{***}$ ) se debe a su efecto indirecto vía peso final del grano, ya que una larga duración del llenado incrementa el peso final del grano, pero reduce su porcentaje de proteína.

#### 4. DISCUSIÓN

La eficiencia de la ecuación logística propuesta por Darroch y Baker (1990) en el ajuste de las curvas del llenado del grano en nuestro estudio, confirma las conclusiones de otros autores que utilizaron esta ecuación en sus trabajos (Panozzo y Eagles, 1999; Royo *et al.*, 2000). El régimen hídrico ejerció mayor influencia sobre los parámetros del llenado del grano en los años 1998 y 2000. El déficit hídrico redujo el peso final del grano y la duración del llenado del grano y aumentó la velocidad de la acumulación de los carbohidratos en el grano. Las altas temperaturas registradas en el ambiente de secano durante la fase del llenado del grano acortaron la duración de dicha fase, aumentando la tasa de llenado (Gebeyehou *et al.*, 1982b; Sofield *et al.*, 1977a). En el regadío, la disponibilidad de agua refresca la cubierta vegetal, permitiendo un desarrollo del grano bajo condiciones más favorables de temperatura. Las bajas temperaturas tienden a alargar la duración del llenado del grano y a reducir su tasa de crecimiento, lo que resulta en más acumulación de carbohidratos y, por lo tanto, en un elevado peso final del grano. El año 1999 fue muy particular, ya que las altas temperaturas registradas en la antesis y durante la fase final del ciclo, acompañadas de escasas precipitaciones, afectaron del mismo modo tanto al regadío como al secano. El riego suministrado a las plantas pocos días después de la antesis parece que no fue de gran eficacia, a causa de la elevada evapotranspiración debido a las tan altas temperaturas.

En nuestro estudio, el peso final del grano y la tasa del llenado del grano parecen estar bajo control genético, aunque se afectaron también por los factores ambientales. Varios autores señalan la dependencia genética de estos factores. La tasa máxima del llenado del grano parece estar controlada por factores genéticos, como ha sido

concluido por Wiegand y Cuellar (1980), Gebeyehou et al., (1982b), Bruckner y Frohberg (1987), Darroch y Baker (1990) y Motzo *et al.*, (1996). El peso final del grano también se considera como una propiedad conservativa del genotipo (Gallagher y Biscoe, 1978; Motzo *et al.*, 1996). La duración del llenado del grano tiene una fuerte dependencia ambiental, ya que se influye mucho por las temperaturas durante el llenado del grano y, en especial, durante la última fase.

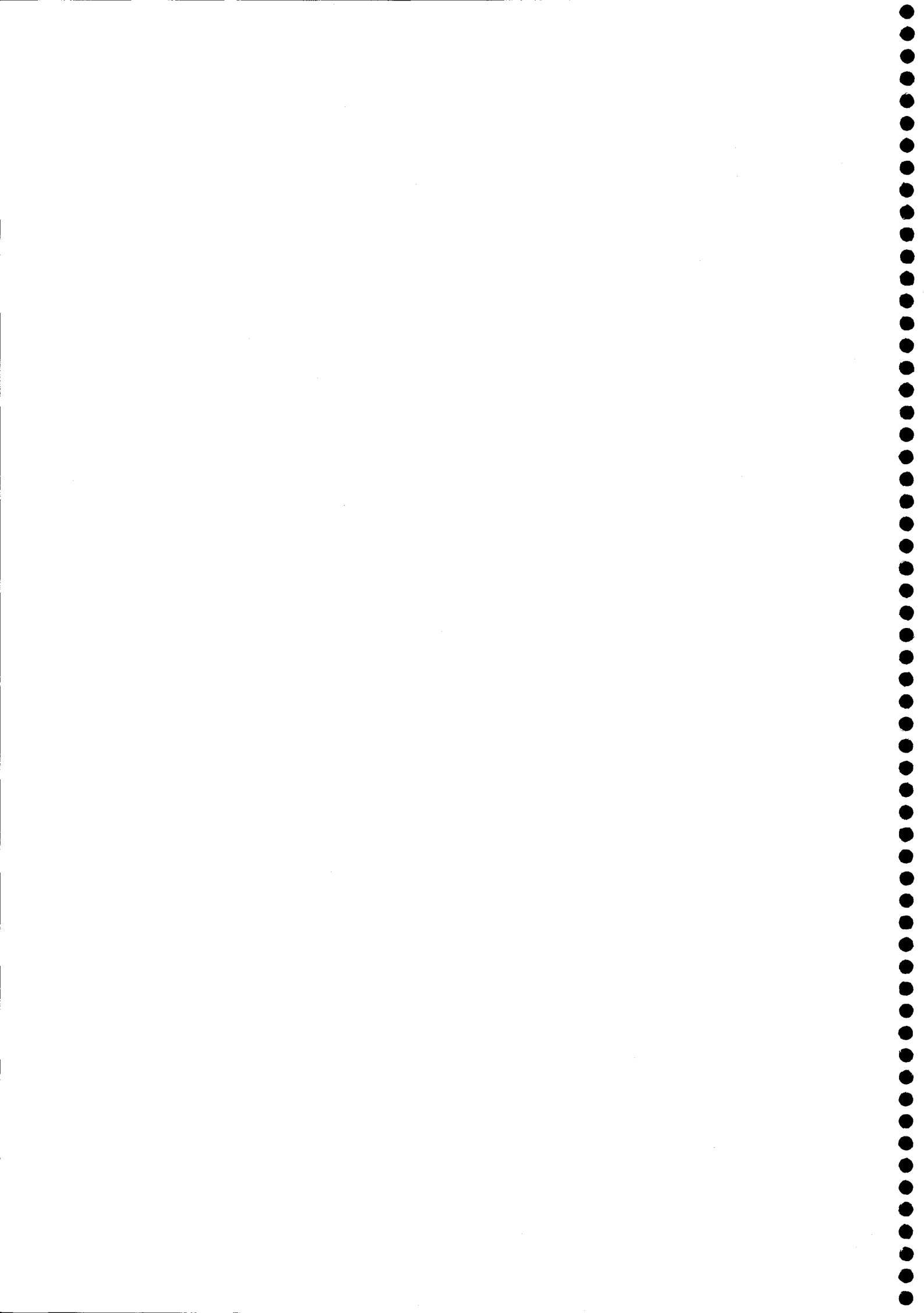
El análisis multivariante caracterizó los dos ambientes en función de las variables utilizadas. Así, el regadío permitió elevados rendimientos en grano debido a un gran número de granos por m<sup>2</sup> y largas duraciones del llenado del grano. De esta forma, las condiciones favorables que caracterizan a los regadíos en la fase vegetativa, debido a la mayor disponibilidad de agua (precipitaciones y riego), permitieron la expresión del potencial de la planta, resultando en mayor número de tallos fértiles y mayor número de flores dentro de la inflorescencia. Esto determinó una mayor capacidad de formación de espigas por m<sup>2</sup> y mayor número de granos por espiga. Durante la fase del llenado del grano, la menor temperatura de la cubierta vegetal, favoreció un menor consumo de carbohidratos por la respiración de los granos y una mayor eficiencia en el uso del agua, permitiendo una mejor asimilación fotosintética, lo que resultó en mayor peso de los granos. El ambiente de secano favoreció una mejor deposición de las proteínas en el grano y se caracterizó por mayor duración del periodo vegetativo. La acumulación de las proteínas en el grano bajo condiciones de déficit hídrico no se ve tan limitada como la de los carbohidratos, más sensibles al cierre estomático y altas temperaturas. Esto determina una mayor concentración de proteína respecto a la de carbohidratos. Según Jenner (1994), temperaturas entre 30 y 40°C, reducen la actividad de la enzima sintetasa soluble del almidón probablemente a causa de su desnaturalización por las temperaturas lo que lleva a una baja conversión de sacarosa en almidón. La acumulación del nitrógeno en el grano se ve menos afectada por las altas temperaturas que la acumulación de los carbohidratos, ya que la mayor parte del nitrógeno es absorbido antes de la antesis (Kolderup, 1975; Austin *et al.*, 1977; Sofield *et al.*, 1977b). El efecto final de las altas temperaturas durante el llenado del grano es, por tantos, una reducción en el peso del grano acompañada de una alta concentración en proteína (Bhullar y Jenner, 1985; Wardlaw *et al.*, 1989; Jenner, 1991;

Correl *et al.*, 1994). La larga duración del periodo vegetativo observada en el ambiente de secano, se debe principalmente a que la antesis ocurrió más tarde en el ciclo de la planta (en comparación con el regadío). Ello probablemente se ha debido a una velocidad más lenta del crecimiento vegetativo, debido a las bajas temperaturas durante la primera fase del cultivo, acompañadas de escasez de agua (elemento esencial para la acumulación de biomasa vegetativa). El análisis multivariante vuelve a confirmar la dependencia genética de la tasa máxima y de la duración del llenado del grano. Así, las diferencias genotípicas en la tasa máxima del llenado del grano se encontraron en el ambiente de secano, donde las condiciones desfavorables para el desarrollo del grano (altas temperaturas y déficit hídrico) fueron compensadas por los genotipos mediante elevadas tasas del llenado del grano. Esto pone de manifiesto su potencial genético, que se traduce en diferencias genotípicas para este carácter. En estos ambientes semiáridos, un crecimiento rápido del grano a medida que disminuye el agua en el suelo puede ser una buena estrategia para maximizar la eficiencia en la utilización del agua (WUE) después de la antesis (Motzo *et al.*, 1996). En el ambiente de regadío, donde las condiciones fueron más favorables para el crecimiento y el llenado del grano, las diferencias en el potencial genético se tradujeron en diferencias en el peso final del grano.

Los coeficientes de sendero no se diferenciaron mucho de los coeficientes de correlación, pero aportaron información adicional sobre el peso de la relación que tiene cada carácter con el otro. El número de granos por  $m^2$  fue el componente más importante en la determinación del rendimiento. Resultados similares se encontraron en otros estudios en el sur de España (Ramos *et al.*, 1982; García del Moral *et al.*, 1985; García del Moral *et al.*, 1991). La ausencia de efecto negativo del número de granos por  $m^2$  sobre el peso del grano lleva a pensar en la posibilidad de la selección para ambos caracteres para mejorar el rendimiento. El número de granos por  $m^2$  presentó una relación inversa con la duración del periodo vegetativo, probablemente causada por una mayor mortalidad de los tallos cuando se alarga el crecimiento vegetativo, aumentando la competencia por los recursos del ambiente. Las variaciones en el peso final del grano vinieron determinadas principalmente por la duración y la tasa del llenado del grano. Debido a la relación inversa entre la tasa del llenado del grano y su duración, el efecto

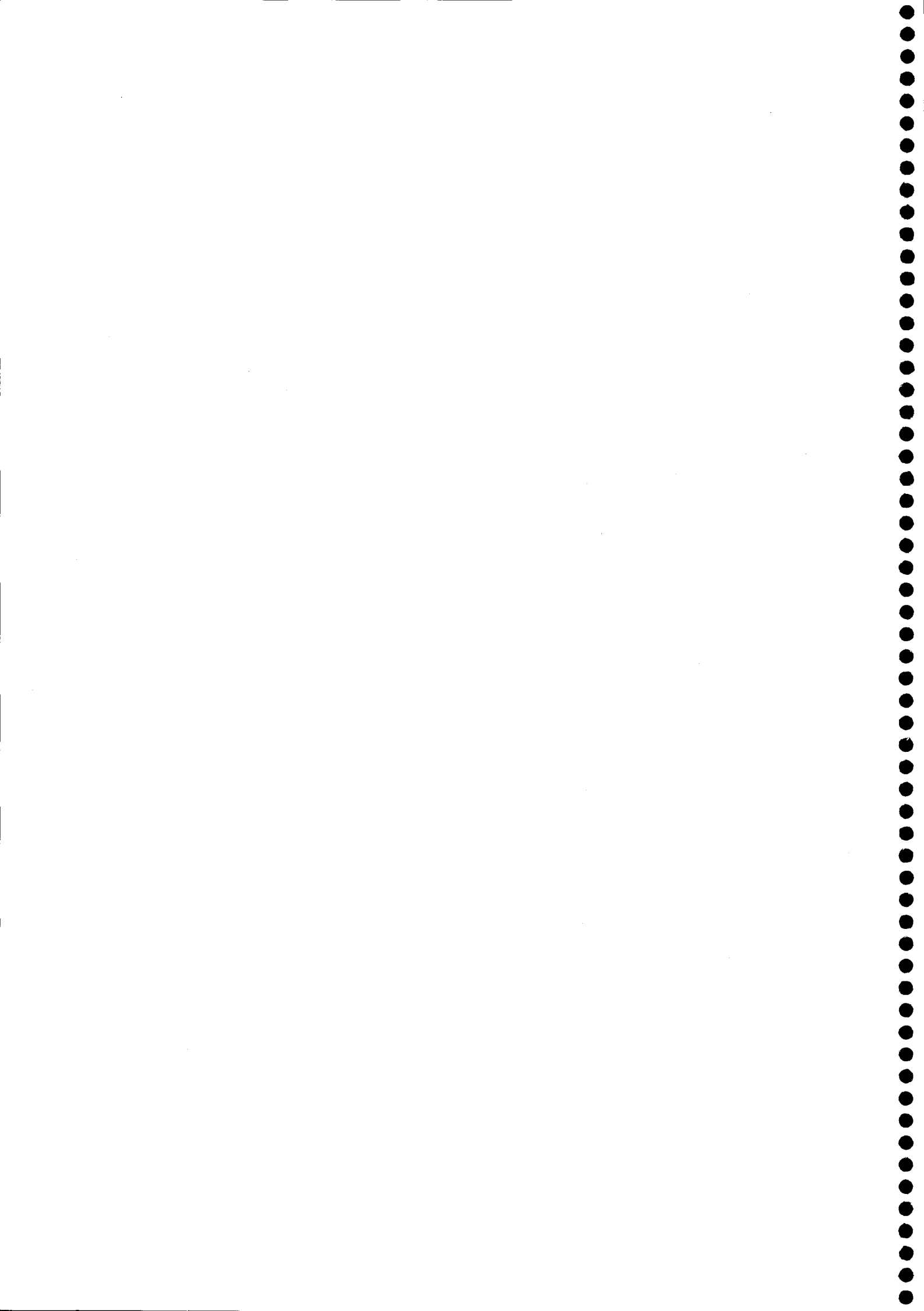


de cada parámetro sobre el peso final del grano dependió de las condiciones ambientales. Así, en los ambientes que reducen la tasa del llenado del grano, la duración del mismo determina mayoritariamente el peso del grano. Al contrario, en los ambientes que acortan la duración del llenado del grano, la velocidad de translocación de asimilados hacia el grano parece determinante de su peso final. Se encontró también una relación negativa entre la duración del periodo vegetativo y la duración del llenado del grano. Esta relación negativa parece ser un carácter común en los cereales como el trigo duro (Gebeyehou *et al.*, 1982a; Motzo *et al.*, 1996), trigo blando (Sayed y Gadallah, 1983, Bruckner y Frohberg, 1987), y cebada (García del Moral *et al.*, 1991). Esta relación se explica por el hecho de que cuando se alarga el periodo vegetativo, la fase de llenado del grano suele tener lugar bajo condiciones de altas temperaturas y mayor déficit hídrico. El contenido en proteína se vio afectado negativamente por el rendimiento en grano y el peso del grano debido a un efecto de dilución del nitrógeno cuando aumenta la cantidad de almidón en el endospermo. La duración del periodo vegetativo tuvo una influencia positiva sobre el contenido en proteína, que se debió a dos factores. Por una parte, al efecto negativo que ejerce la duración del periodo vegetativo sobre el rendimiento en grano, concentrando la proteína, como se ha discutido. Y por otra, porque un alargamiento del periodo vegetativo resulta en una mayor translocación de los compuestos nitrogenados al grano, ya que la mayor parte de la proteína del grano en los cereales se acumula en el período previo a la antesis (Austin *et al.*, 1977).





# CAPÍTULO 4



## 1. INTRODUCCIÓN

Una de las etapas más importantes de la mejora vegetal es la evaluación y descripción de las variaciones observadas en el material genético utilizado. La mayoría de los caracteres de interés agronómico y que determinan la de calidad son de herencia cuantitativa, estando muy influidos por el ambiente. El resultado es una expresión diferencial de los genotipos cuando se estudian en distintos ambientes, lo que se denomina interacción Genotipo  $\times$  Ambiente ( $G \times E$ ). Los análisis estadísticos de los ensayos multi-locales deben detectar la interacción  $G \times E$ , cuantificarla y tratar de interpretarla en términos útiles para ayudar a determinar una estrategia de mejora para los caracteres de interés (Fox *et al.*, 1997). Los investigadores coinciden en la necesidad de obtener variedades estables y de alto rendimiento, pero no se ponen de acuerdo en la definición del concepto de estabilidad ni en los métodos estadísticos para su estimación (Cubero y Flores, 1994). El término adaptación se utiliza dentro del contexto de una variación en el espacio, mientras que el término estabilidad se refiere a una dimensión temporal. Sin embargo, en la mayoría de los estudios, se estima que la estabilidad medida espacialmente o temporalmente es la expresión de un mismo fenómeno. Becker (1981) estableció dos conceptos básicos de estabilidad: La *estabilidad biológica*, donde los genotipos estables son aquellos que muestran variación mínima, medible por la varianza estadística frente a los diferentes ambientes; y la *estabilidad agronómica*, por la cual un genotipo es considerado estable si tiene una respuesta (o sensibilidad) positiva a los cambios entre ambientes. De igual forma, León (1985), definió dos conceptos de estabilidad dependiendo del fin propuesto y del carácter en consideración: *concepto estático* y *concepto dinámico*. Ambos coinciden, respectivamente, con los mencionados conceptos biológico y agronómico de Becker.

Se han propuesto muchos métodos estadísticos para medir la estabilidad y analizar la interacción  $G \times E$ . La mayoría de estas técnicas están relacionadas con el concepto agronómico de estabilidad, como, por ejemplo, los métodos paramétricos univariantes. Posteriormente, se propusieron métodos no paramétricos, los que, por estar basados en las ordenaciones de los genotipos, no necesitan cumplir ninguna

condición sobre la distribución de los datos observados (*i.e.*, homogeneidad de varianzas). También, se han introducidos técnicas de análisis multivariante para el análisis de la estabilidad. Estos métodos suministran una información amplia y novedosa sobre la verdadera respuesta de los genotipos a los ambientes.

El primer paso en el análisis del comportamiento de una serie de genotipos en diferentes ambientes, es la comprobación de la significación estadística de la interacción  $G \times E$  mediante un análisis de la varianza. Cuando la interacción es significativa, se aborda el estudio de la naturaleza de tal interacción y la utilización de las técnicas de análisis adecuadas para su mejor interpretación.

Dentro de los métodos paramétricos univariantes más utilizados, se puede citar la ecovalencia de Wricke (1962) y la varianza de estabilidad de Shukla (1972). Ambos determinan la contribución de cada genotipo, en todos los ambientes, a la suma de cuadrados de la interacción, también conocida como interactividad genotípica. Cuanto más pequeños son los valores de estos dos estadísticos, más alta es la estabilidad agronómica. Otro método paramérico es el análisis de la regresión conjunta, que es una forma muy frecuente de caracterizar la estabilidad fenotípica a través de los ambientes. Fue introducido por Mooers (1921) y posteriormente descrito y elaborado por Yates y Cochran (1938). Más adelante, se amplió por Mandel (1961) y finalmente por Finaly y Wilkinson (1963), quienes añadieron a la comparación de las pendientes de regresión las medias totales de cada genotipo. Así, los genotipos con pendiente cercana a 1 y alto rendimiento, se consideran como bien adaptados a todos los ambientes. Como complemento al coeficiente de regresión, el cuadrado medio residual de las desviaciones de la regresión describe la contribución de cada genotipo a la interacción  $G \times E$  (Eberhart y Russell, 1966).

Los métodos univariantes no-paramétricos tienen la ventaja de no requerir ninguna suposición sobre la distribución de los datos y la homogeneidad de sus varianzas. Estos métodos se basan en el orden de los genotipos en los distintos ambientes; por lo tanto, un genotipo será estable si su posición en el ordenamiento general de todos los genotipos es similar en los distintos ambientes. Uno de estos

métodos más utilizado es la consistencia del comportamiento, formulado por Ketata y *al.* (1989). Estos autores propusieron el uso simultáneo de la posición media y su desviación estándar para cada genotipo.

Los métodos multivariantes son apropiados para analizar matrices de dos dimensiones, como son las que contienen datos de genotipos y ambientes. El método multivariante más utilizado por los investigadores en los últimos años es el AMMI (Additive Main effect and Multiplicative Interaction). Fue introducido por Mandel (1971) y más tarde elaborado y establecido por Zobel *et al.* (1988). El AMMI estudia inicialmente los efectos aditivos principales de genotipos y ambientes, por medio de un análisis de varianza, y describe la parte no-aditiva de la variación (interacción  $G \times E$ ) por medio de un análisis de componentes principales. Gauch y Zobel (1988) indicaron dos métodos para elegir el modelo AMMI apropiado para la matriz de datos  $G \times E$ . Un método *postdictivo*, en el que los datos se utilizan para construir un modelo que explique los datos y comparar los valores esperados con los datos de partida. Y otro método *predictivo*, en el que los datos se dividen en dos partes: los que van a servir para elaborar el modelo (es decir los datos a los cuales se les aplica el análisis AMMI) y los que se reservan para la prueba de validez. A partir de los datos del modelo se obtienen los valores esperados que se compararan con los datos de validación. Cuando el modelo que mejor describe nuestros datos es el AMMI1 (los efectos aditivos y el primer eje de componente principal, PCA1), se pueden representar las coordenadas del PCA1 (en ordenadas) frente a las medias marginales de genotipos y ambientes (en abscisas). Esta representación es la denominada biplot de Gabriel (1971). El análisis AMMI es frecuentemente utilizado para la estimación de la estabilidad del rendimiento en grano en los cereales (Nachit *et al.*, 1992 a y c; Romagosa *et al.*, 1993; Royo *et al.*, 1993; Annicchiarico y Perenzin, 1994; Pecetti *et al.*, 1996; Annicchiarico, 1997, Voltas *et al.*, 2000).

La aplicación de los métodos univariantes paramétricos y no-paramétricos, así como los multivariantes, ofrecen un amplio rango de parámetros de estabilidad. Sus diferentes estadísticos, sus ventajas e inconvenientes, así como las relaciones entre ellos

han sido revisados por varios autores (Lin et al., 1986; Becker y León, 1988; Weber et al., 1996; Brancourt-Hulmel et al., 1997; Flores et al., 1998).

Los métodos para estimar la estabilidad, ya mencionados, han sido en su mayoría propuestos para analizar el rendimiento en grano como el carácter de más interés económico en los cereales. Sin embargo en los trigos (duros y blandos), la estabilidad en concepto agronómico de los caracteres de calidad también tiene su importancia en los programas de mejora, por el interés que tiene a nivel del mercado. En el clima mediterráneo, la impredecibilidad del rendimiento en grano y de su calidad, debido a la fuerte fluctuación interanual de las precipitaciones y las altas temperaturas de fin de ciclo, constituye un factor añadido a la dificultad de la mejora. La industria de transformación de los trigos (pasta y panificación) requiere, sin embargo, una calidad constante del material primario (Peterson et al., 1992). En este sentido, la estabilidad de la calidad, denominada estabilidad económica por Rober y Denis (1996), garantiza una rentabilidad constante en el proceso de transformación de los productos de trigo. La inestabilidad económica, normalmente se debe a los efectos del ambiente y a la interacción  $G \times E$ . Las condiciones ambientales, como las elevadas temperaturas y la humedad durante el llenado del grano (Blumenthal et al., 1993, Jenner et al., 1991), la distribución de las precipitaciones (Campbell, 1981) y la fertilización nitrogenada (Rao et al., 1993), tienen una influencia significativa sobre la calidad del trigo. La importancia de la interacción  $G \times E$  para la calidad del grano no está muy clara (Peterson et al., 1992), principalmente porque se han dirigido pocos esfuerzos para determinar su magnitud (BASF y Cooper, 1998).

Se ha propuesto el concepto de estabilidad estática (o biológica) para parámetros de calidad. En este sentido, es deseable que estos parámetros se mantengan a lo largo de todos los ambientes. Sin embargo, la calidad de un genotipo reacciona, como otros caracteres cuantitativos, a las condiciones ambientales favorables o desfavorables, variando en su comportamiento (Grausgruber et al., 2000). La calidad de la pasta o de panificación de los trigos sigue, por lo tanto, un concepto agronómico (Becker, 1981) o dinámico (León, 1985) de estabilidad.



Los objetivos de este capítulo han sido:

- (i) Cuantificar e interpretar la interacción  $G \times E$ .
- (ii) Determinar los patrones de estabilidad de los 10 genotipos estudiados.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el capítulo 1 se ha presentado la descripción general de los experimentos. A continuación se describen los métodos específicos de este capítulo.

### 2.1 *Caracteres medidos*

El estudio de la estabilidad se enfocó tanto sobre el rendimiento en grano, como sobre los distintos parámetros de calidad. El rendimiento en grano se determinó a partir de la cosecha de cada parcela en todos los ensayos y un posterior ajuste a una humedad del 12%. El contenido en proteína se determinó mediante el método de Kjeldhal en cada parcela sobre muestra de harina. El porcentaje se calculó después de multiplicar el contenido en nitrógeno por 5,7 y fue expresado a base seca. El peso específico se calculo a partir de pesar la cantidad de granos en un cilindro de 0,25 l, expresándolo en  $\text{kg hl}^{-1}$ . El contenido en pigmentos se determinó midiendo el contenido en 2-carotenos según la metodología descrita en Fares *et al.* (1991), que es una modificación del método estándar de AACC. Se trata de una extracción en 1-butanol y posterior lectura en espectrofotómetro a 448 nm. El volumen de sedimentación SDS, expresado en mililitros, fue determinado por el método de Axford *et al.* (1978) modificado por el CIMMYT. La vitrosidad se evaluó sobre una muestra de 200 granos considerando un grano no vítreo todo grano totalmente o parcialmente harinoso, partido o enfermo (virus y hongos).

## 2.2 *Análisis estadísticos*

En nuestro estudio hemos utilizado varias técnicas de análisis de estabilidad y de la interacción  $G \times E$ ., eligiendo posteriormente las que más se ajustaron a la naturaleza de nuestros datos. Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SAS/STAT (SAS, 1997). A continuación se describe cada uno de estos métodos.

### 2.2.1 *Métodos univariantes paramétricos*

#### *a- Análisis de regresión conjunta*

El análisis de varianza nos permite determinar si la interacción  $G \times E$  es significativa, pero es incapaz de indicar aquellos factores que más contribuyen a esta interacción. Uno de los métodos más utilizados en el estudio de la interacción  $G \times E$  y su relación con la estabilidad genotípica, es el análisis de la regresión conjunta propuesto por Finlay y Wilkinson (1963).

Esta técnica utiliza el análisis de varianza para probar los efectos aditivos principales y descompone la interacción  $G \times E$  en dos partes: una debida a la heterogeneidad de los coeficientes de regresión y otra a las desviaciones de estas regresiones.

De la heterogeneidad, se puede extraer un componente más con un solo grado de libertad para probar la tendencia de las líneas de regresión a converger en un punto. Este componente, llamado convergencia, expresa la correlación entre las medias genotípicas y los coeficientes de regresión.

En el método de la regresión se asume que la interacción está linealmente relacionada con el efecto ambiental, es decir:

$$(ge)_{ij} = b_i e_j + d_{ij}$$

donde:

$(ge)_{ij}$  : interacción del genotipo  $i$  con el ambiente  $j$ .

$b_i$  : coeficiente de regresión del genotipo  $i$ .

$e_j$  : efecto principal del ambiente  $j$ .

$d_{ij}$  : residual de la regresión del genotipo  $i$  sobre el ambiente  $j$ .

De esta forma, el modelo lineal de la regresión conjunta puede ser formulado como sigue:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + b_i e_j + r_{k(j)} + \varepsilon_{ik(j)}$$

donde:

$Y_{ijk}$  : rendimiento en grano (o algún parámetro de calidad) del genotipo  $i$  en el ambiente  $j$  y en el bloque  $k$ .

$\mu$  : media general.

$g_i$  : efecto principal del genotipo  $i$ .

$e_j$  : efecto principal del ambiente  $j$ .

$b_i$  : coeficiente de regresión del genotipo  $i$ .

$r_{k(j)}$  : efecto del bloque  $k$  en el ambiente  $j$ .

$\varepsilon_{ik(j)}$  : error experimental.

Cabe notar que el modelo utilizado fue un modelo mixto con los genotipos como factor fijo y los ambientes y los bloques como factores aleatorios.

Para una mejor interpretación de los resultados de la regresión conjunta, se representaron los coeficientes de regresión frente a las medias genotípicas totales para cada uno de los caracteres medidos.

Junto a los coeficientes de regresión, se han calculado los cuadrados medios de las desviaciones de la regresión ( $S_{di}^2$ ) para cada genotipo, tal como fue propuesto por Eberhart y Russel (1966). Este parámetro de estabilidad se calcula según la ecuación siguiente:

$$S_{di}^2 = \frac{1}{e-2} \left[ \sum_j (Y_{ij} - \bar{Y}_i - \bar{Y}_j - \bar{Y}_{..})^2 - (b_i - 1)^2 \sum_j (\bar{Y}_j - \bar{Y}_{..})^2 \right]$$

donde:

$Y_{ij}$  : valor medio del carácter medido para el genotipo  $i$  en el ambiente  $j$ .  
 $e$  : número de ambientes.

#### *b- Varianza de estabilidad de Shukla*

Shukla (1972) definió la varianza de estabilidad como la contribución de cada genotipo a la suma de cuadrados de la interacción  $G \times E$ . Se calculó de acuerdo a:

$$\alpha_i^2 = \frac{(g(g-1))\sum_j (Y_{ij} - \bar{Y}_i - \bar{Y}_j + \bar{Y}_{..})^2 - \sum_i \sum_j (Y_{ij} - \bar{Y}_i - \bar{Y}_j + \bar{Y}_{..})^2}{(g-1)(g-2)(e-1)}$$

donde:

$Y_{ij}$  : valor medio del carácter medido para el genotipo  $i$  en el ambiente  $j$ .  
 $g$  : número de genotipos.  
 $e$  : número de ambientes.

## 2.2.2 Métodos univariantes no-paramétricos

### *a- Consistencia del comportamiento*

Este método se utiliza esencialmente para identificar los cultivares estables en todos los ambientes (Ketata *et al.*, 1989). Se basa en la determinación del rango u ordenamiento medio y de la desviación típica de los ordenamientos para cada genotipo en todos los ambientes. Un genotipo es considerado estable cuando su ordenamiento medio y la desviación típica de ordenamiento son bajos.

## 2.2.3 Métodos multivariantes

### *a- AMMI*

El modelo AMMI (Additive Main effects and Multiplicative Interaction) integra el análisis de varianza para los efectos principales aditivos con el análisis de componentes principales (ACP) para los efectos multiplicativos (Zobel *et al.*, 1988).

Utiliza dos procedimientos para determinar el número de ejes de componentes principales (PCA) que se incluyen en el análisis: la estimación *postdictiva* y la *predictiva*. En nuestro caso, se ha limitado a la estimación postdictiva que se basa sobre el test F de la proporción de variación explicada por cada eje para identificar aquellos que son significativos.

El modelo AMMI se describe como sigue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \sum \lambda_n \zeta_{in} \eta_{jn} + \theta_{ij}$$

donde:

$Y_{ij}$  : rendimiento en grano (o algún parámetro de calidad) del genotipo  $i$  en el ambiente  $j$ .

$\mu$  : media general.

$\alpha_i$  : efecto principal del genotipo  $i$ .

$\beta_j$  : efecto principal del ambiente  $j$ .

$\lambda_n$  : autovalor (eigenvalue) del eje  $n$  de componentes principales.

$\zeta_{in}$  : valores genotípicos procedentes del análisis de componentes principales correspondiente al eje  $n$ .

$\eta_{jn}$  : valores ambientales procedentes del análisis de componentes principales correspondiente al eje  $n$ .

$\theta_{ij}$  : residual.

Cabe destacar que este análisis se realizó sobre los datos tipificados para los ambientes con una media de 0 y una desviación típica de 1. Utilizando los datos brutos, los ambientes que más contribuyen a la interacción  $G \times E$  fueron aquellos con medias elevadas, debido a una alta relación positiva entre las medias y las desviaciones típicas para todos los caracteres estudiados ( $r > 0,90$ ). En este tipo de situación, muchos autores proponen una tipificación de los datos, con el fin de dar a los ambientes el mismo peso relativo (Fox y Rosielle, 1982; Yau, 1991).

**Tabla 4.1.** Partición de la suma de cuadrados (SC) y cuadrados medios (CM) resultante del análisis de varianza y regresión conjunta para 6 caracteres de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	Rendimiento en grano		Contenido en proteína		Peso específico		Contenido en pigmentos		Volumen de Sedimentación		Vitrosidad	
		SC ( $\times 10^5$ )	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM
Ambiente	8	6059,4	757,4***	315,5	39,4***	1147,7	143,5***	26,1	3,3***	444,4	55,2***	9035,0	1129,4***
Genotipo	9	119,7	13,3***	41,2	4,6***	428,4	47,6***	108,8	12,1***	337,2	37,5***	2495,5	277,3***
Bloque (E)	27	292,9	10,9***	25,2	0,9	61,0	2,3	3,6	0,1	14,4	0,5***	569,7	21,1***
G $\times$ E	72	673,6	9,4***	97,2	1,4***	374,3	5,2***	31,3	0,4***	49,5	0,7***	6783,7	94,2***
Heterog.	9	99,4	11,0	16,7	1,9	107,7	12,0*	6,7	0,7	15,2	1,7*	4368,0	485,3***
Conv.	1	3,3	3,3	7,5	7,5*	3,2	3,2	0,6	0,6	8,4	8,4*	3876,5	3876,5***
Desv. conv.	8	96,1	12,0***	9,3	1,2	104,5	13,1***	6,1	0,8***	6,8	0,9***	491,5	61,4***
Desv. reg	54	574,3	10,6***	80,5	1,5***	266,6	4,9***	24,6	0,5***	34,4	0,6***	2415,7	44,7***
Error	243	539,5	2,2	183,2	0,8	437,8	1,8	35,0	0,1	49,0	0,2	1780,0	7,33***
Total	359	7685,0		662,3		2449,2		204,8		891,4		20663,9	

E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

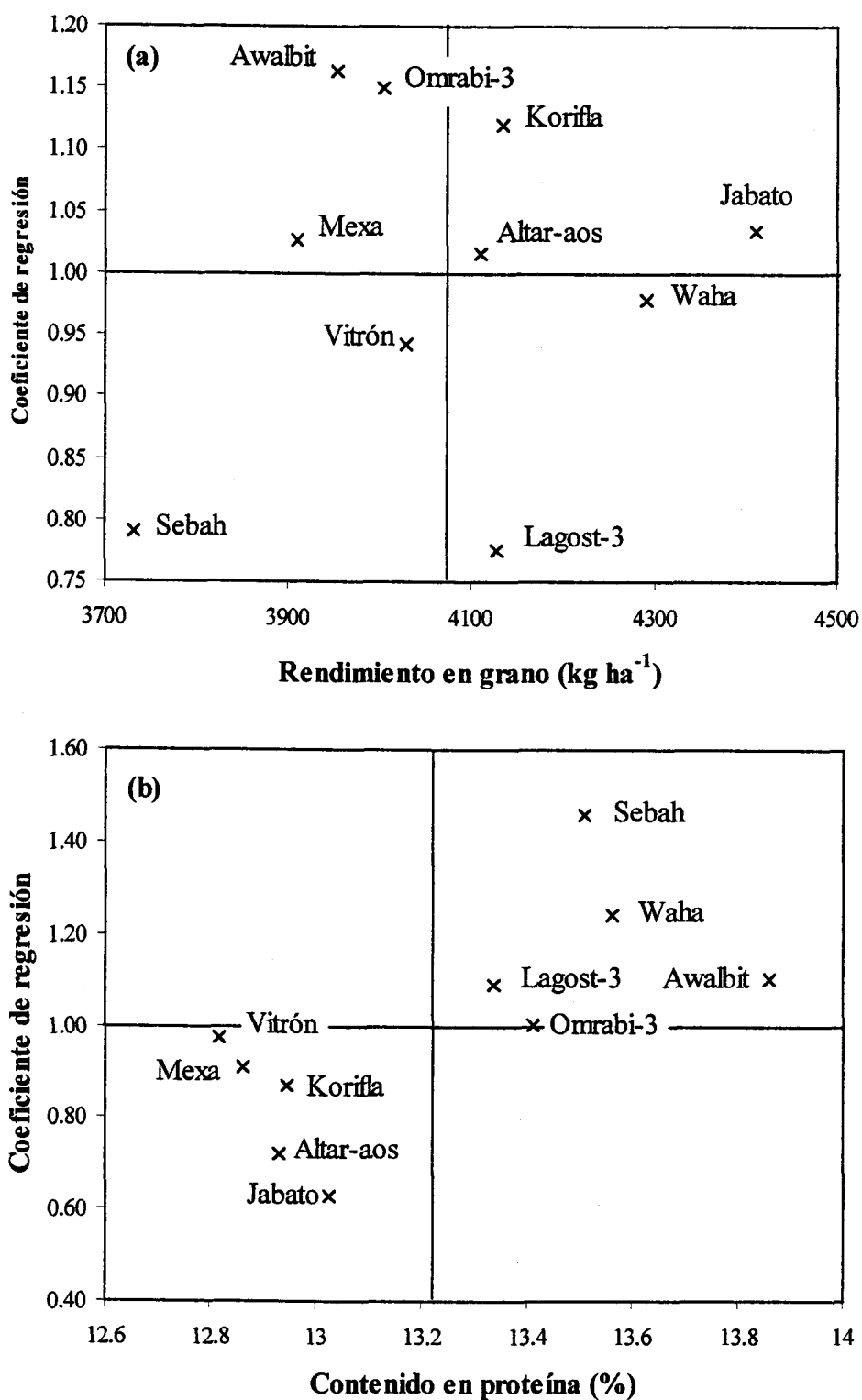
### 3. RESULTADOS

#### 3.1 *Análisis de la regresión conjunta*

La tabla 4.1 representa los resultados del análisis de varianza y regresión conjunta para el rendimiento en grano y los diferentes parámetros de calidad. Para el rendimiento en grano, el contenido en proteína y el contenido en pigmentos, la heterogeneidad de los coeficientes de regresión (Heterog. en la tabla 4.1) no fue significativa y explicó sólo el 15, 17 y 21% de la suma de cuadrados de la interacción, respectivamente. En el caso del peso específico y del volumen de sedimentación SDS, fue moderadamente significativa ( $P < 0,05$ ) y explicó el 29 y 31% de la suma de cuadrados de la interacción. Para la vitrosidad, la heterogeneidad fue altamente significativa, donde presentó el 64% de la suma de cuadrados de la interacción. El test de la convergencia de las líneas de regresión (Conv. en la tabla 4.1) en un punto, fue significativo sólo para el contenido en proteína, el volumen de sedimentación SDS y la vitrosidad, demostrando una correlación significativa entre los coeficientes de regresión y las medias de los genotipos. Para todos los caracteres, el residual de la regresión (Desv. reg. en la tabla 4.1) fue altamente significativo, dejando sin explicar una gran proporción de la interacción  $G \times E$ .

A continuación se presenta la relación de los coeficientes de regresión con las medias genotípicas, para determinar aquellos genotipos con adaptación general o específica a alguno de los ambientes estudiados. El hecho de que la regresión conjunta sólo pudiera explicar una pequeña parte de la interacción  $G \times E$ , condiciona que las conclusiones de este análisis deban ser tratadas con precaución, o al menos ser consolidadas con otros análisis que sean capaces de extraer la mayor parte de la interacción.

En la figura 4.1a se representa dicha relación para el rendimiento en grano. Jabato, Waha, Altar-aos y Vitrón parecen tener una adaptación general a todos los ambientes. Awalbit, Omrabi-3 y Korifla están bien adaptados a ambientes favorables,



**Figura 4.1.** Relación entre el coeficiente de regresión y las medias genotípicas del rendimiento en grano (a) y el contenido en proteína (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).



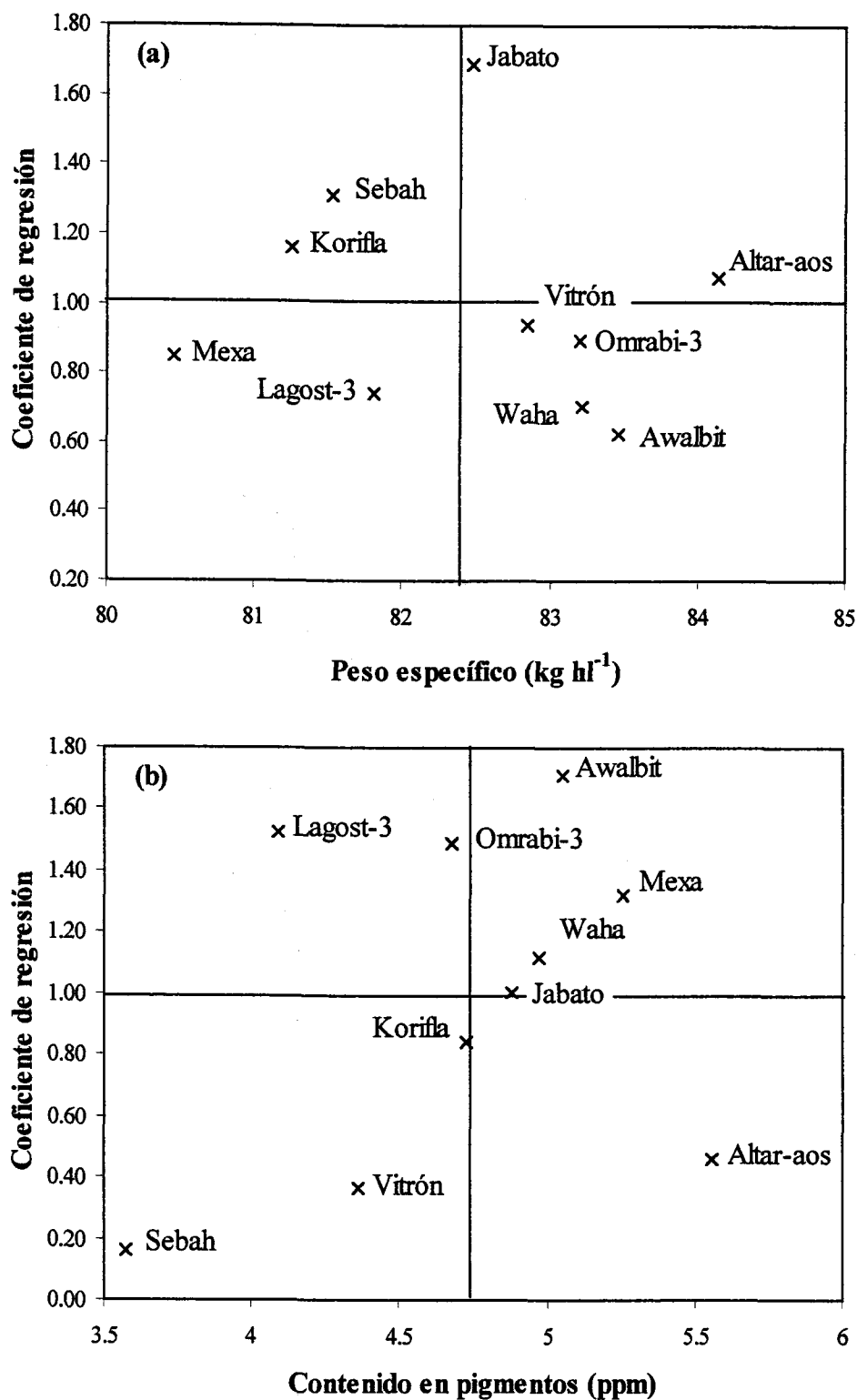


Figura 4.2. Relación entre el coeficiente de regresión y las medias genotípicas del peso específico (a) y el contenido en pigmentos (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

mientras que Sebah y Lagost-3 presentan una adaptación específica a ambientes desfavorables. Mexa es el único genotipo que parece mal adaptado en todos los ambientes.

En cuanto al contenido en proteína (figura 4.1b), Awalbit, Lagost-3 y Omrabi-3 pueden tener una estabilidad general en todos los ambientes. Waha y Sebah están bien adaptados a ambientes que favorecen la acumulación de proteína en el grano (los secanos). Altar-aos y Jabato parecen más adaptados a ambientes menos favorables a elevadas concentraciones de proteína (los regadíos). Vitrón, Mexa y Korifla parecen tener un contenido en proteína inestable en todos los ambientes de nuestro estudio.

Para el peso específico (figura 4.2a), Altar-aos, Vitrón y Omrabi-3 parecen tener un peso estable en todos los ambientes. Jabato parece estar más bien adaptado a ambientes favorables (regadío), mientras que Awalbit, Waha y Lagost-3 están más adaptados a ambientes desfavorables (secano). Sebah, Korifla y Mexa parecen estar peor adaptados a los ambientes de la zona.

En cuanto al contenido en pigmentos (figura 4.2b), Waha, Jabato y Korifla presentan una estabilidad general en todos los ambientes. Altar-aos, Vitrón y Sebah se encuentran más adaptados a los ambientes desfavorables para un alto contenido en pigmentos (regadío), mientras que Mexa, Awalbit, Omrabi-3 y Lagost-3 parecen estar más adaptados a ambientes favorables (los secanos).

Los patrones de adaptación para el volumen de sedimentación (una medida de la fuerza del gluten), se presentan en la figura 4.3a. Se observa que ningún genotipo posee una estabilidad general en todos los ambientes. De esta forma, hay un grupo de genotipos (Altar-aos, Vitrón, Mexa, Korifla, Awalbit y Omrabi-3), que parecen estar mejor adaptados a los ambientes de secano (en particular al ambiente de Jerez, como se discutió en el Capítulo 2) y que, por tanto, presentan un gluten de mayor fuerza. Por el contrario, Sebah, Lagost-3, Jabato y Waha poseen un gluten más débil, por estar mejor adaptados al ambiente de regadío, condiciones que favorecen el desarrollo de gluten con menor fuerza.

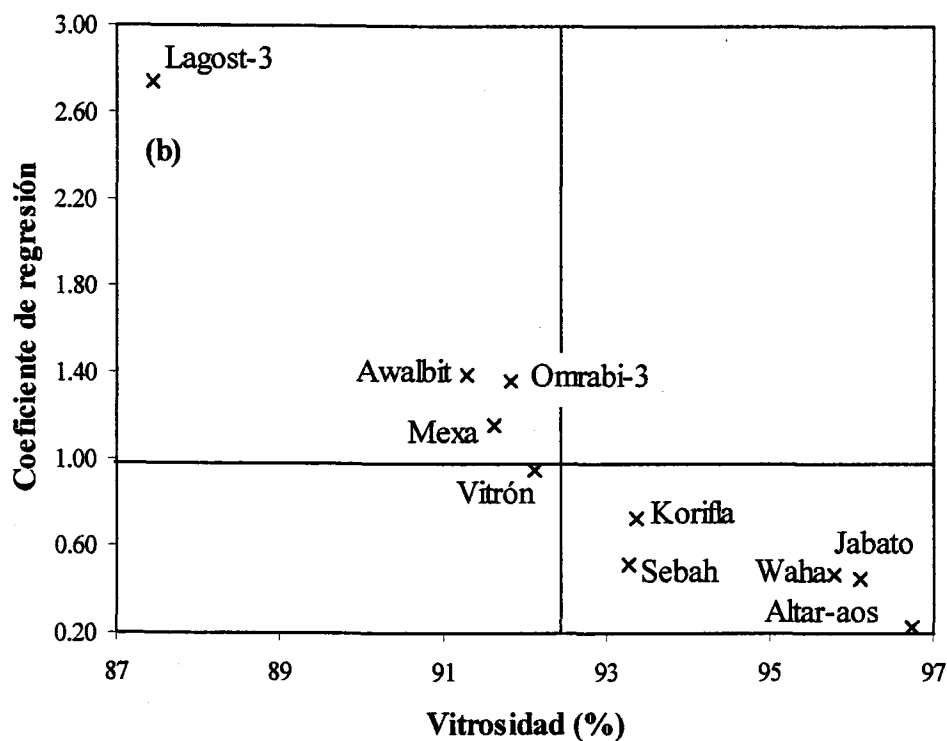
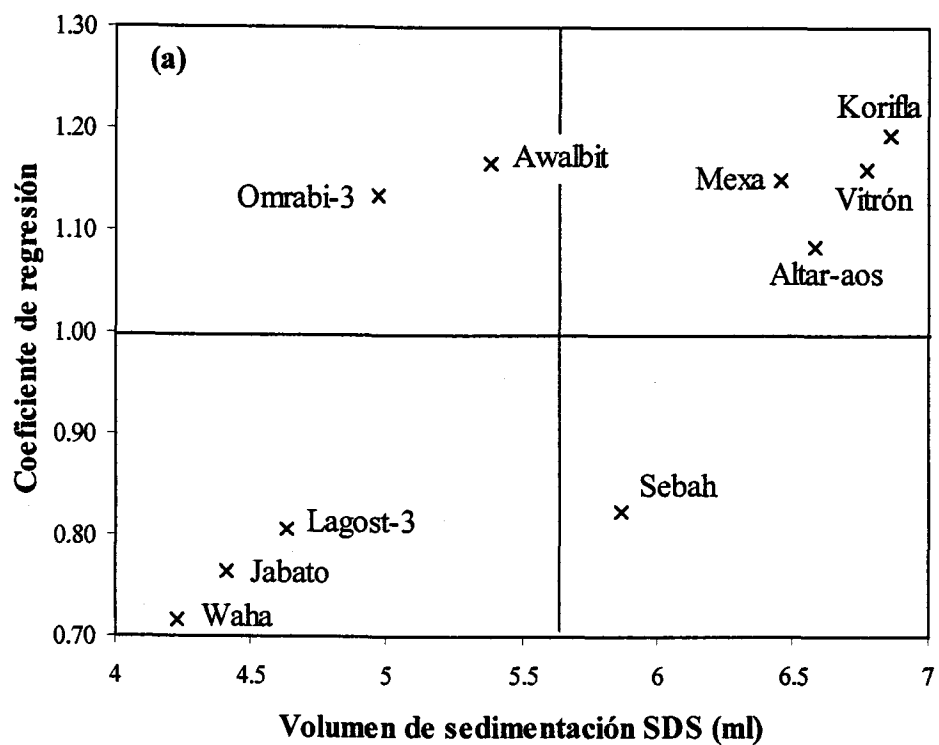


Figura 4.3. Relación entre el coeficiente de regresión y las medias genotípicas del volumen de sedimentación SDS (a) y el porcentaje de vitreosidad (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

Para la vitrosidad (figura 4.3b), Vitrón es el único genotipo que presenta una estabilidad general en todos los ambientes. Korifla, Sebah, Waha, Altar-aos y Jabato, con valores altos de vitrosidad parecen estar más adaptados a ambientes desfavorables para esta característica (regadío). Mexa, Omrabi-3, Awalbit y Lagost-3 presentan mayor adaptación a los ambientes favorables al desarrollo de un elevado porcentaje de vitrosidad (secano).

En la tabla 4.2 se puede observar la comparación entre genotipos para estas características, derivada del análisis por regresión conjunta de todos los ambientes de acuerdo con Eberhart y Russel (1966).

**Tabla 4.2.** Cuadrados medios residuales de la regresión ( $S^2_{di}$ ) para 6 caracteres de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000). En negrita se indican aquellos con mayor estabilidad.

Genotipo	Rendimiento en grano	Contenido en proteína	Peso específico	Contenido en pigmentos	Volumen de sedimentación	Vitrosidad
Altar-aos	<b>277674</b>	1,131	2,72	0,215	<b>0,234</b>	<b>0,055</b>
Awalbit	457306	<b>0,772</b>	2,49	0,221	0,349	0,122
Jabato	513805	<b>0,454</b>	2,71	0,241	<b>0,190</b>	<b>0,036</b>
Korifla	<b>377373</b>	<b>0,727</b>	<b>1,22</b>	<b>0,079</b>	0,414	0,172
Lagost-3	443616	1,373	3,60	<b>0,108</b>	<b>0,244</b>	<b>0,060</b>
Mexa	501251	<b>0,689</b>	<b>2,08</b>	0,252	0,442	0,195
Omrabi-3	425520	0,907	<b>1,71</b>	0,197	<b>0,241</b>	<b>0,058</b>
Sebah	<b>371445</b>	0,944	2,46	<b>0,161</b>	<b>0,223</b>	<b>0,050</b>
Vitrón	427366	<b>0,773</b>	<b>1,17</b>	0,221	0,380	0,144
Waha	<b>341588</b>	<b>0,726</b>	2,34	<b>0,164</b>	<b>0,155</b>	<b>0,024</b>

### 3.2 Varianza de estabilidad de Shukla

La varianza de estabilidad de Shukla mide la contribución de cada genotipo a la interacción G×E, definiendo los genotipos más estables como aquellos que contribuyen menos a dicha interacción y, por lo tanto, presentan las menores varianzas.

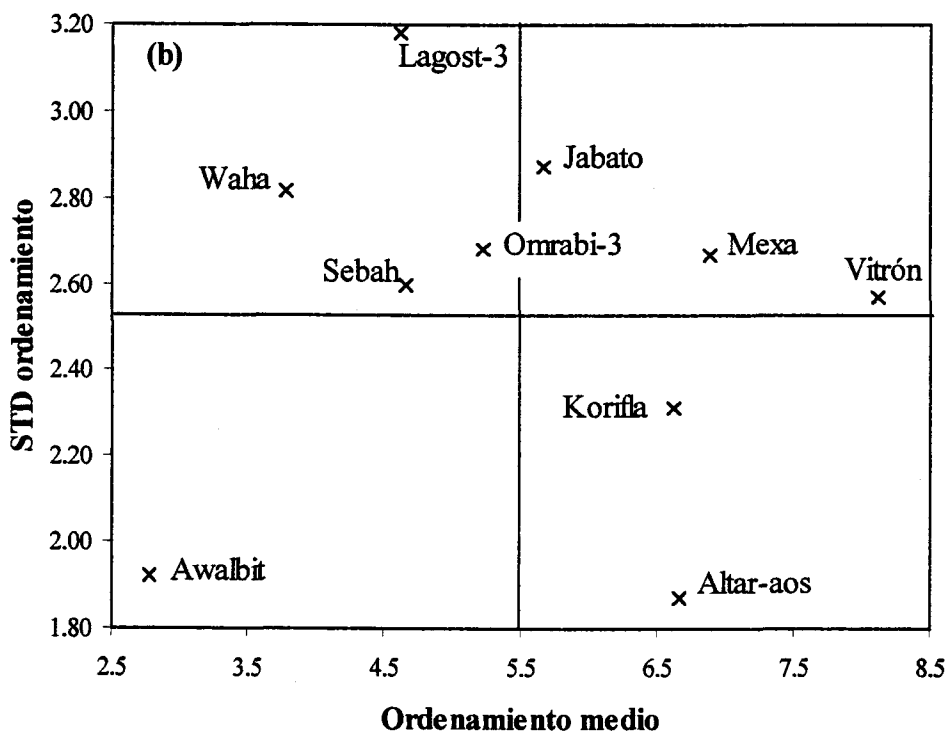
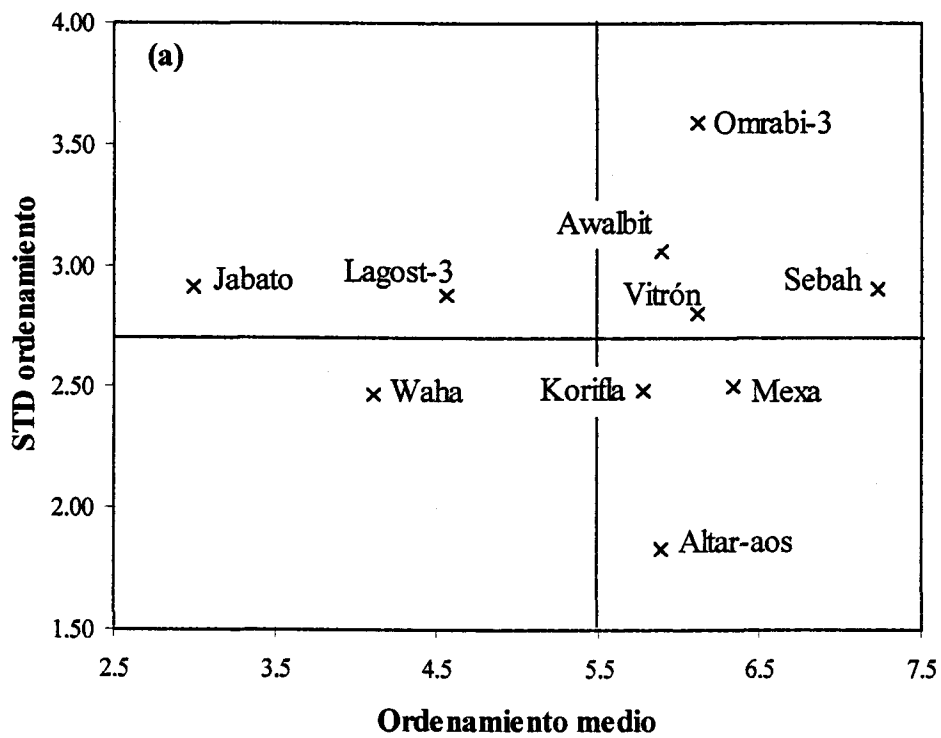
La tabla 4.3 muestra los valores estimados de la varianza de estabilidad de Shukla para el rendimiento en grano y los parámetros de calidad. Los genotipos seleccionados como estables para cada carácter son aquellos cuyas varianzas son menores que la media de todas las varianzas y se muestran en negrita. Se observa que Altar-aos, Korifla y Waha, que mostraron un rendimiento en grano estable, también fueron estables para los demás parámetros de calidad.

**Tabla 4.3.** Valores estimados de la varianza de estabilidad de Shukla para 6 caracteres de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Genotipo	Rendimiento en grano	Contenido en proteína	Peso específico	Contenido en pigmentos	Volumen de sedimentación	Vitrosidad
Altar-aos	<b>28987</b>	<b>0,159</b>	<b>0,837</b>	<b>0,056</b>	<b>0,167</b>	<b>0,001</b>
Awalbit	239438	<b>0,036</b>	<b>0,865</b>	0,200	<b>0,129</b>	28,180
Jabato	365191	0,442	3,887	0,117	<b>0,143</b>	<b>1,750</b>
Korifla	<b>178066</b>	<b>0,001</b>	<b>0,571</b>	<b>0,016</b>	<b>0,150</b>	<b>3,762</b>
Lagost-3	324882	<b>0,170</b>	3,124	<b>0,106</b>	0,204	37,711
Mexa	356788	<b>0,030</b>	<b>0,658</b>	0,150	0,224	18,212
Omrabi-3	247314	0,268	<b>0,726</b>	0,151	0,205	31,555
Sebah	369032	0,954	1,433	0,113	<b>0,095</b>	<b>3,921</b>
Vitrón	205206	0,332	<b>0,047</b>	0,133	0,241	19,515
Waha	<b>54296</b>	<b>0,244</b>	<b>0,872</b>	<b>0,046</b>	0,176	<b>2,532</b>

### 3.3 Consistencia del comportamiento

El método de consistencia del comportamiento es una técnica no-paramétrica, que se basa sobre el ordenamiento de los genotipos para medir la estabilidad genotípica.



**Figura 4.4.** Relación entre el ordenamiento medio y la desviación típica (STD) de los ordenamientos para el rendimiento en grano (a) y el contenido en proteína (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

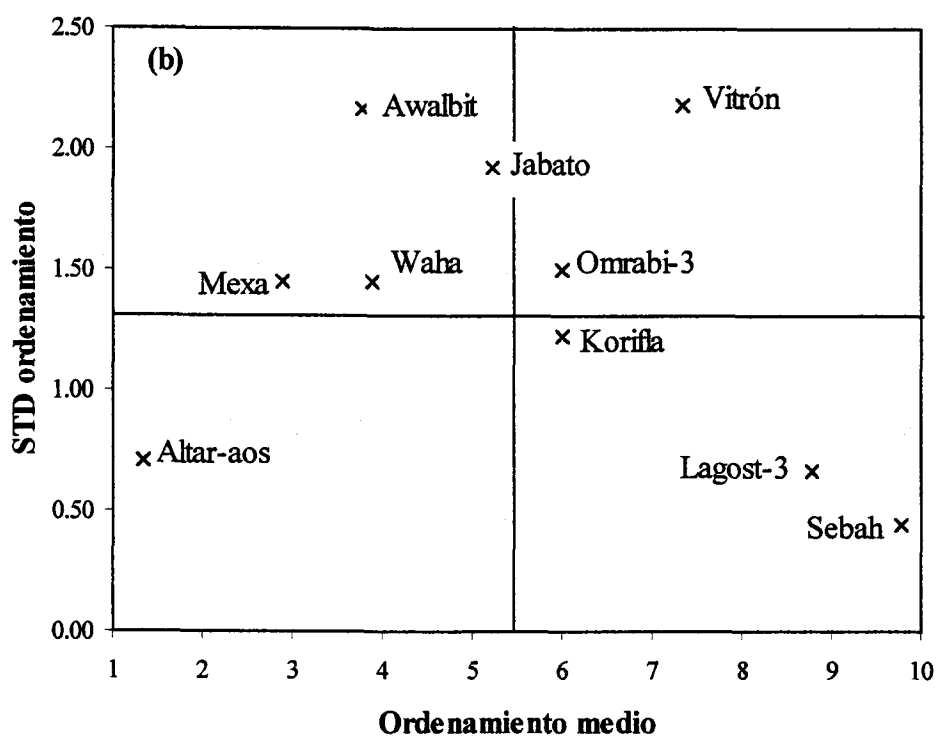
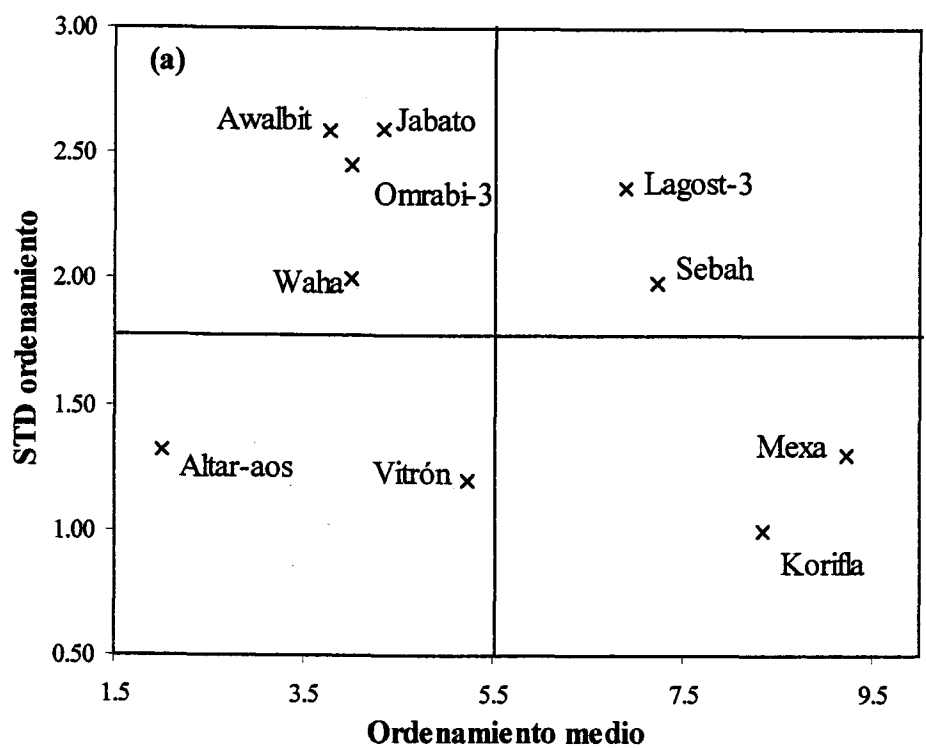


Figura 4.5. Relación entre el ordenamiento medio y la desviación típica (STD) de los ordenamientos para el peso específico (a) y el contenido en pigmentos (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

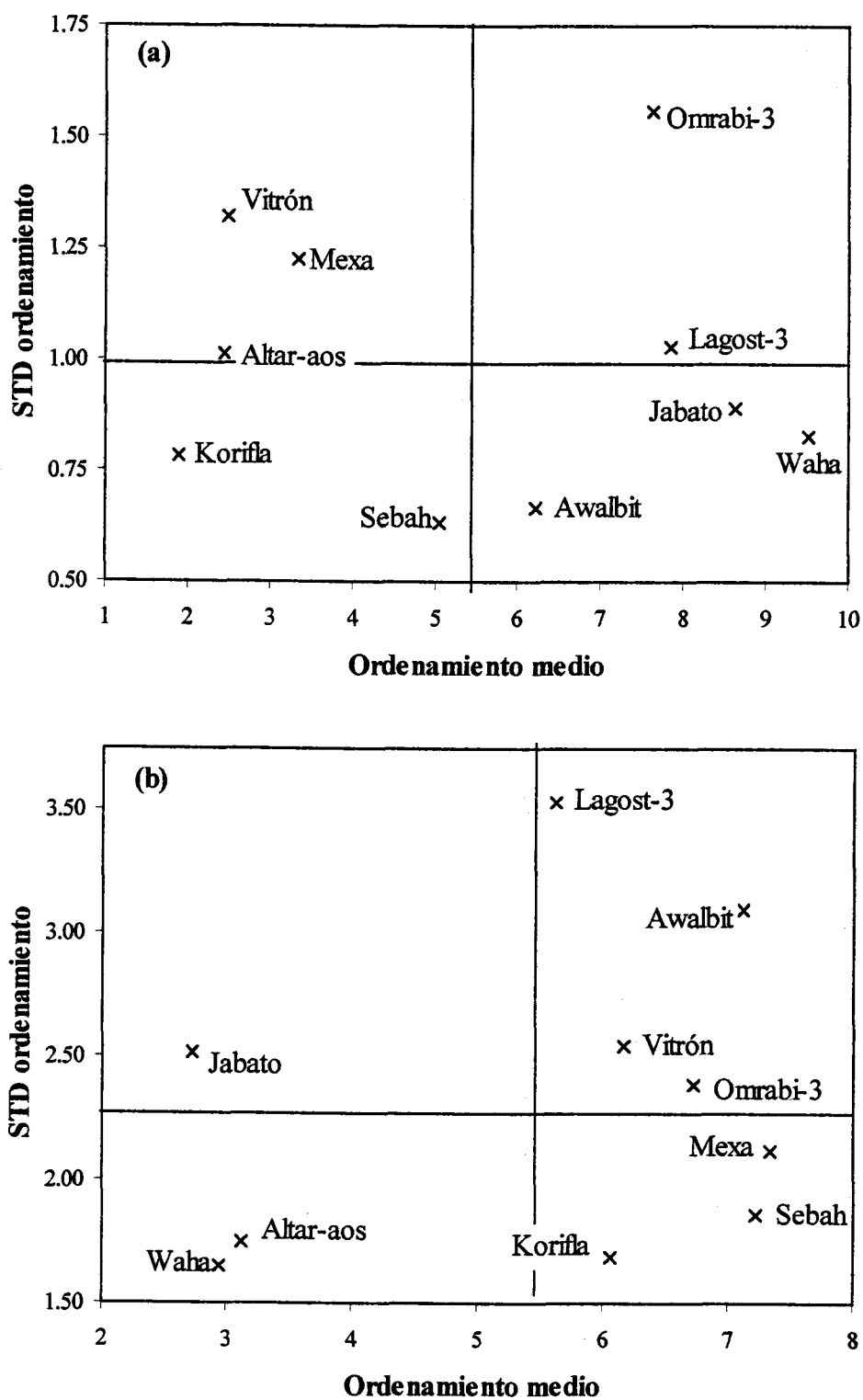


Figura 4.6. Relación entre el ordenamiento medio y la desviación típica (STD) de los ordenamientos para el volumen de sedimentación SDS (a) y el porcentaje de vitrosidad (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).



La figura 4.4 representa los ordenamientos medios de los genotipos y las desviaciones típicas de dichos ordenamientos. Se seleccionan como genotipos estables y de alto rendimiento (u otro parámetro de calidad), aquellos que se encuentran en la parte izquierda inferior de cada gráfico.

Así, para el rendimiento en grano (figura 4.4a), Waha presenta alta estabilidad en la mayoría de los ambientes, mientras que Jabato y Lagost-3 estarían mejor adaptados a ambientes específicos. De igual modo, se seleccionaría Awalbit como genotipo estable en el caso del contenido en proteína (figura 4.4b). Como genotipos de peso específico estable (figura 4.5a), se pueden seleccionar Vitrón y Altar-aos. También para el contenido en pigmentos (figura 4.5b), Altar-aos parece ser el más estable. Korifla y Sebah pueden ser seleccionados como genotipos con gluten fuerte y estable (figura 4.6a) y, en cuanto a la vitrosidad (figura 4.6b), Altar-aos y Waha parecen ser los más estables.

### 3.4 *Análisis AMMI*

La tabla 4.4 presenta el resultado del análisis AMMI para el rendimiento en grano y los parámetros de calidad. La partición de la suma de cuadrados de la interacción  $G \times E$  reveló la eficiencia del AMMI en extraer más información sobre la naturaleza de dicha interacción. En todos los parámetros, el componente residual del análisis no fue significativo. El primer eje de componentes principales explicó en todos los casos una gran parte de la suma de cuadrados de la interacción  $G \times E$  y fue el más importante en el caso de rendimiento en grano (42% de la suma de cuadrados de la interacción), del peso específico (35%) y del volumen de sedimentación SDS (39%). Para el contenido en proteína, el contenido en pigmentos y la vitrosidad, el primer eje también fue el de mayor relevancia, explicando el 37, 42 y 46% de la suma de cuadrados de la interacción, aunque los otros ejes también fueron altamente significativos, pero con menos peso. Debido a que, aproximadamente, la mitad de la información obtenida de la interacción  $G \times E$  fue captada en el primer eje de

**Tabla 4.4.** Partición de la suma de cuadrados (SC) y cuadrados medios (CM) de la interacción G×E de los datos estandarizados resultante del análisis AMMI para 6 caracteres de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	Rendimiento en grano		Contenido en proteína		Peso específico		Contenido en pigmentos		Volumen de Sedimentación		Vitrosidad	
		SC	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM	SC	CM
Ambiente	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Genotipo	9	27,7	3,1 ***	42,2	4,7 ***	130,6	14,5 ***	220,7	24,5 ***	267,8	29,8 ***	61,8	6,9 ***
Bloque (E)	27	63,9	2,4 ***	25,5	1,0	18,4	0,7	7,2	0,3	16,7	0,6 ***	25,8	1,0 **
G × E	72	134,8	1,9 ***	106,2	1,5 ***	84,2	1,2 ***	54,8	0,8 ***	27,7	0,4 ***	153,6	2,1 ***
PCA 1	16	56,6	3,5 ***	39,5	2,5 ***	29,6	1,8 **	23,0	1,4 ***	10,8	0,7 ***	70,2	4,4 ***
PCA 2	14	30,3	2,2 *	28,0	2,0 ***	21,1	1,5 *	13,0	0,9 ***	5,7	0,4 *	30,8	2,2 ***
PCA 3	12	15,9	1,3	20,6	1,7 ***	13,7	1,1	8,3	0,7 *	4,5	0,4 *	29,1	2,4 ***
PCA 4	10	15,9	1,6	12,1	1,2 ***	9,4	0,9	5,5	0,5	4,0	0,4 *	13,0	1,3 *
Residual	20	16,1	0,8	6,0	0,3	10,5	0,5	5,0	0,3	2,7	0,1	10,5	0,5
Error	243	124,7	0,5	177,0	0,7	117,8	0,5	68,3	0,3	38,8	0,2	109,8	0,5
Total	359	351,0		351,0		351,0		351,0		351,0		351,0	

E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

componentes principales, mientras que los demás ejes no ofrecieron información genotípica o ambiental relevante, se han realizado los denominados “biplots” para los distintos caracteres estudiados.

En una representación “biplot”, como se puede observar en las figuras que analizaremos a continuación, los efectos aditivos (medias genotípicas y ambientales) se manifiestan en el eje de abscisas, y el efecto multiplicativo (el primer eje de componentes principales PCA 1) en el de ordenadas. Este método permite realizar predicciones del comportamiento de un genotipo en un ambiente, a partir de la suma de los efectos aditivos del genotipo en ese ambiente (media genotípica + media ambiental – media general), más el producto de los autovalores genotípico y ambiental del primer eje de componentes principales. De este modo, ambientes y genotipos cuyos autovalores PCA se encuentran en el mismo semiplano interaccionarán positivamente. Por el contrario, la adaptación de un genotipo será peor de lo esperado en todos aquellos ambientes cuyo autovalor de PCA sea de signo distinto, ya que su producto será negativo. Si un genotipo o ambiente tiene un autovalor de PCA cerca de 0, tendrá una interacción de efecto moderado y será estable en todos los ambientes.

En el caso del rendimiento en grano (figura 4.7a), se encuentra una fuerte interacción año×ambiente tanto en el regadío como en seco y Jerez, por lo que aparecen separados a lo largo del eje PCA1. La aparición de una fuerte interacción año×ambiente dificulta el encontrar explicaciones agrofisiológicas o ambientales adecuadas a los gráficos que este tipo de análisis utiliza para visualizar la adaptación entre variedades y localidades-años. Sin embargo, en nuestro estudio, se puede observar que Jabato, Waha, Mexa y Altar-aos, tienen unos valores de PCA1 cercanos a 0, por lo que muestran poca interacción con los distintos ambientes; es decir, presentan una adaptación más general. Awalbit y Omrabi-3 interaccionan positivamente con los ensayos de regadío de alto rendimiento (ambos con signos negativos sobre el eje PCA1), por lo que parecen tener una adaptación específica a los ambientes de regadío. Sebah, Lagost-3, Vitrón y Korifla aparecen en el mismo semiplano con los ensayos de seco y Jerez, por lo que su adaptación a estos dos ambientes sería también específica.

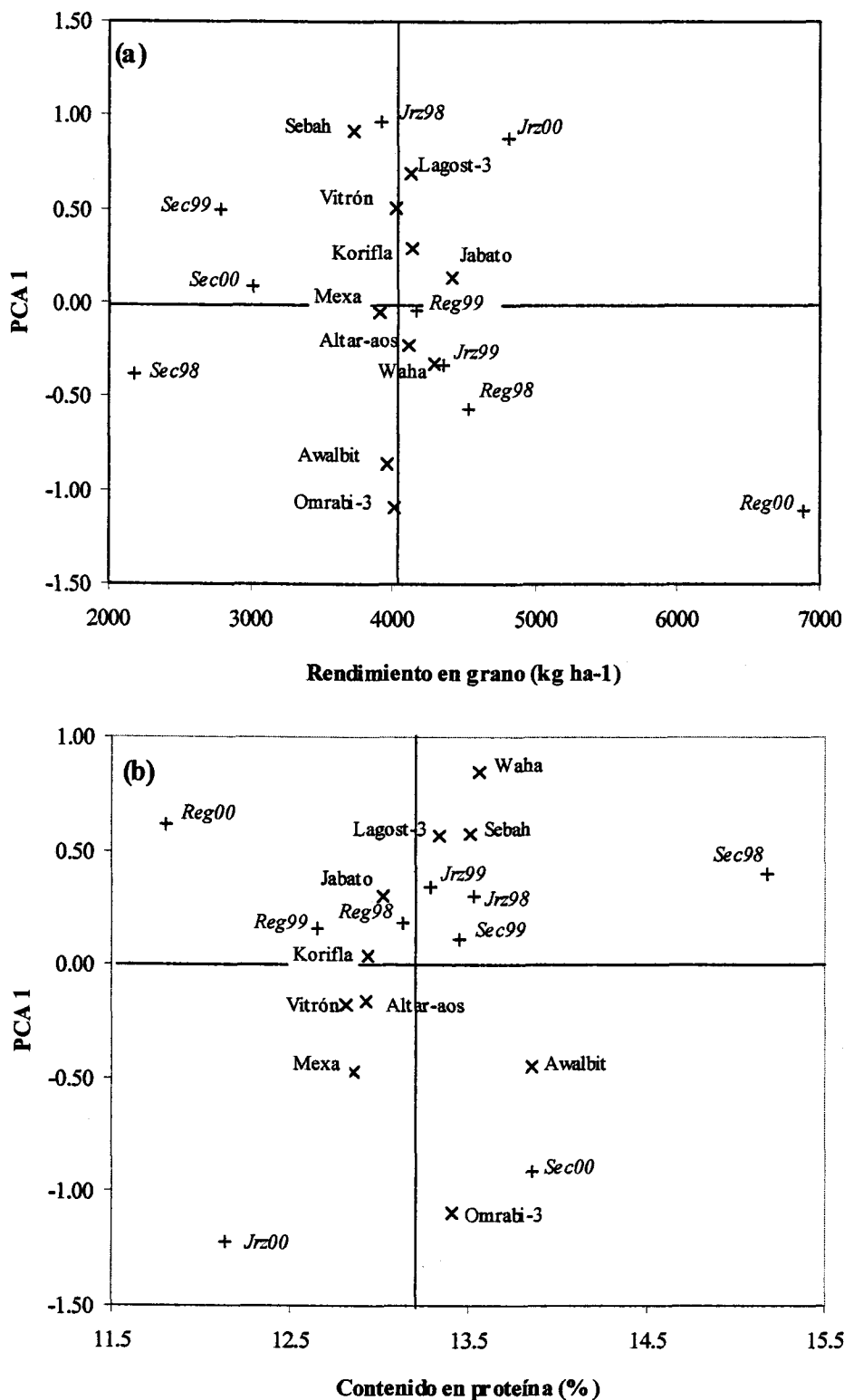


Figura 4.7. Biplot de la relación entre los autovalores genotípicos (x) y ambientales (+) del primer componente principal (PCA 1) resultante del análisis AMMI y las medias genotípicas y ambientales totales del rendimiento en grano (a) y el contenido en proteína (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

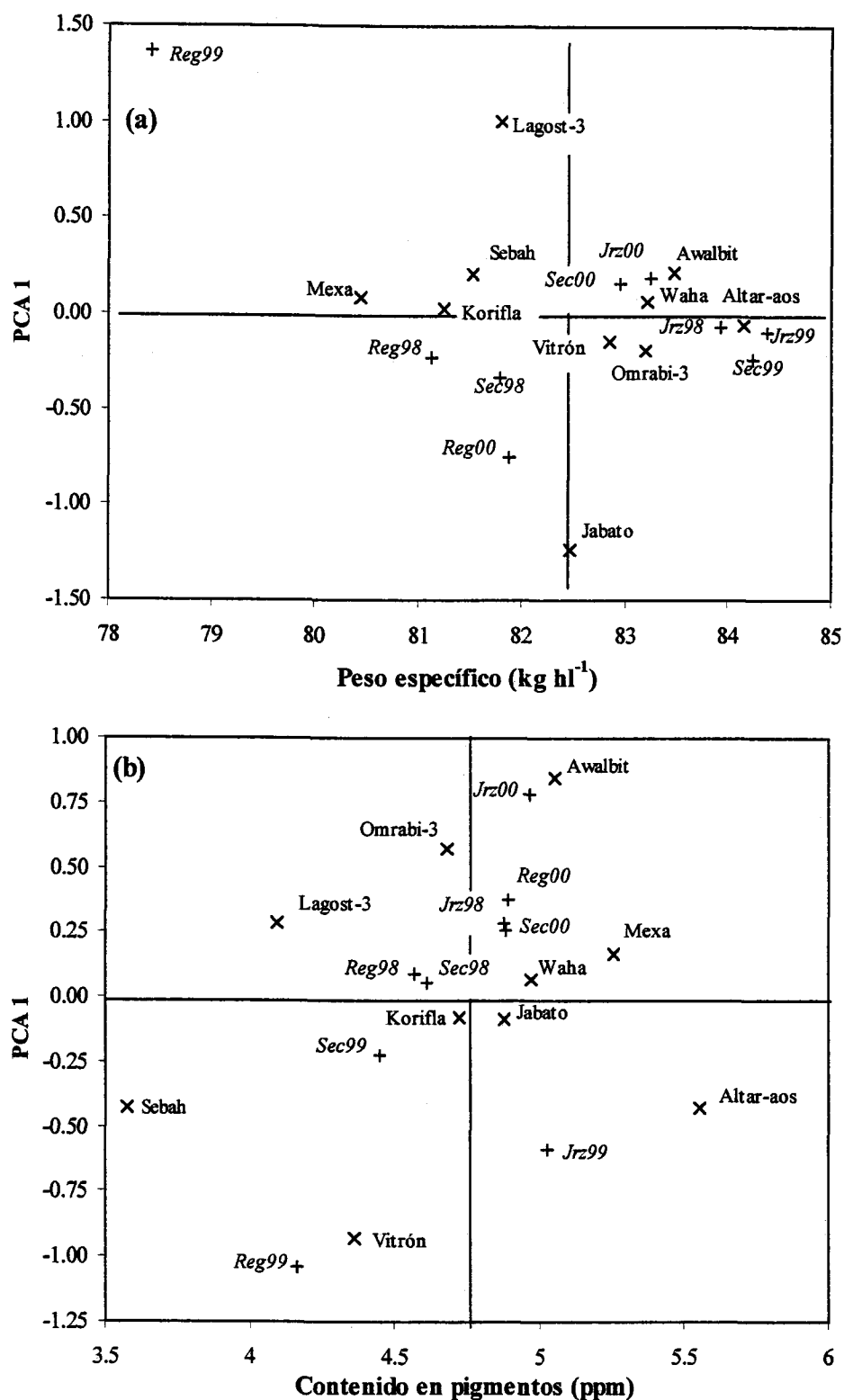


Figura 4.8. Biplot de la relación entre los autovalores genotípicos (x) y ambientales (+) del primer componente principal (PCA 1) resultante del análisis AMMI y las medias genotípicas y ambientales totales del peso específico (a) y el contenido en pigmentos (b) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

Para el contenido en proteína (figura 4.7b), al igual que en el caso del rendimiento, todos los ambientes presentaron una fuerte interacción año×ambiente, dificultando de nuevo la interpretación de los resultados. Salvo Korifla, Altar-aos y Vitrón, cuyas interacciones con el eje PCA1 fueron débiles, indicando cierta estabilidad en todos los ambientes, los demás genotipos tuvieron una alta interacción con el eje PCA1. El genotipo Omrabi-3 presentó mejores contenidos en proteína en los secanos del año 2000 (en Granada y Jerez), mientras que Waha, Sebah y Lagost-3 fueron mejores en las dos primeras campañas de Jerez.

Por lo que respecta al peso específico (figura 4.8a), se manifiesta una fuerte interacción año×ambiente en el regadío, mientras que en el secano y en Jerez, dicha interacción fue de menor importancia. Se observa también la disposición de la mayoría de los ensayos cerca del origen del eje PCA1, lo que quiere decir que dichos ensayos ordenan a los genotipos del mismo modo a lo largo de todos los años. En cuanto a los genotipos, su separación fue principalmente sobre el eje aditivo sin presentar mayores interacciones con el eje multiplicativo PCA1, a excepción de Jabato y Lagost-3.

En cuanto al contenido en pigmentos (figura 4.8b), se pone de manifiesto otra vez la fuerte interacción año×ambiente y la separación, sobre el eje PCA1 de los ensayos de los años 1998 y 2000 en el lado positivo, de aquellos del año 1999 en el lado negativo, quizás debido a las particulares condiciones climáticas de 1999. Altar-aos, Sebah y Vitrón reaccionaron positivamente con los tres ambientes en aquel año. En el otro lado del semiplano, se observa la interacción positiva de Awalbit y Omrabi-3 con el ensayo de Jerez, en el año 2000. Mexa, Waha, Jabato, Korifla y Lagost-3 interaccionaron poco sobre el eje PCA1 y parece estables en todos los ambientes.

Respeto a los valores de SDS (figura 4.9a), se observa la separación de los ensayos del año 1999 con alta fuerza del gluten (en el lado negativo del eje PCA1), de los ensayos de los años 1998 y 2000, con fuerza débil del gluten (en el lado positivo del mismo eje). Del mismo modo, se separan los genotipos de gluten fuerte (interacción positiva con los ensayos de 1999), como Korifla, Vitrón y Mexa, de aquellos con gluten

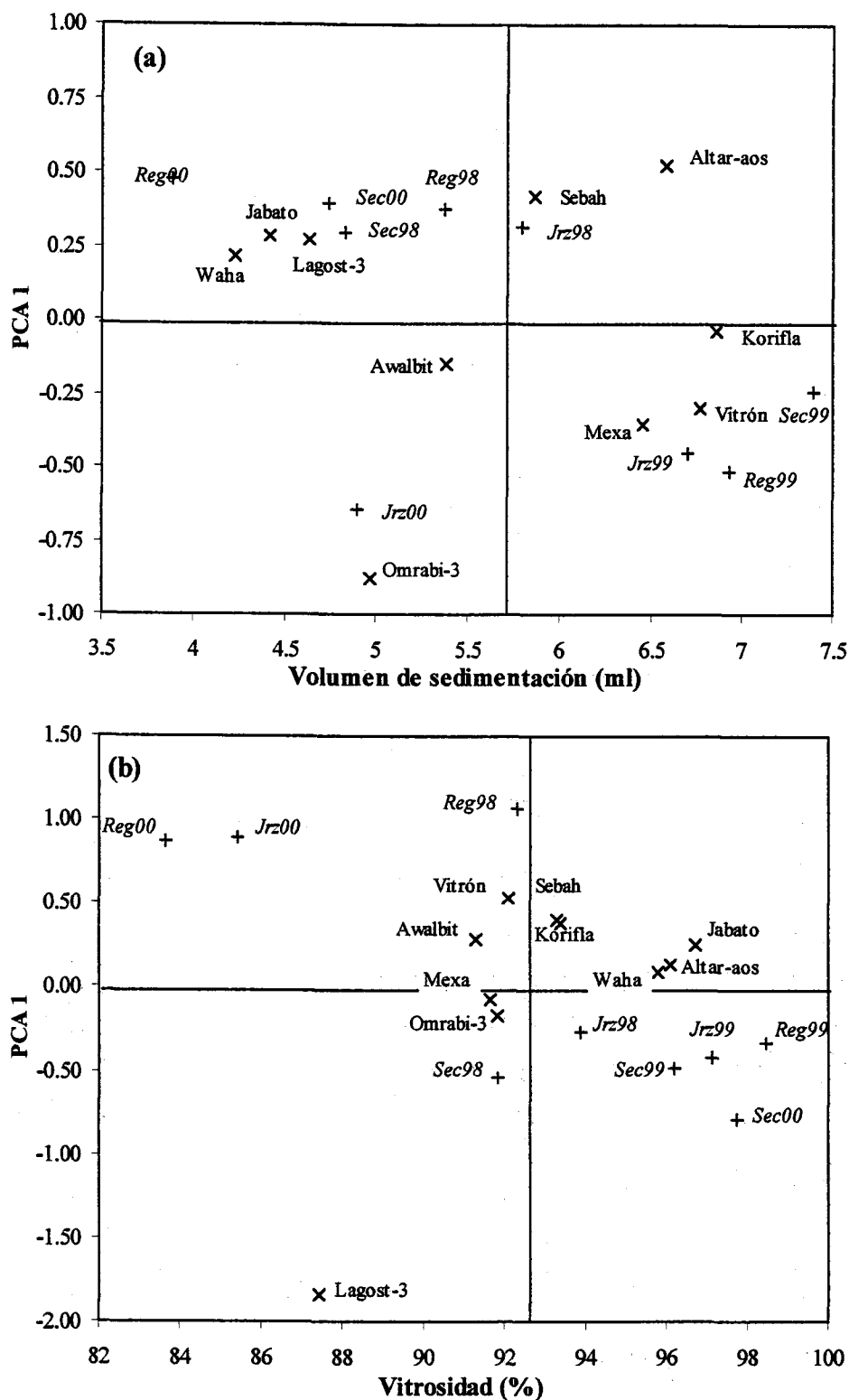


Figura 4.9. Biplot de la relación entre los autovalores genotípicos (x) y ambientales (+) del primer componente principal (PCA 1) resultante del análisis AMMI y las medias genotípicas y ambientales totales del volumen de sedimentación (a) y el porcentaje de vitrosidad (c) de 10 genotipos de trigo duro cultivados en 3 ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante 3 años (1998, 1999 y 2000).

más débil (interacción positiva con los ensayos 1998 y 2000), como Jabato, Waha y Lagost-3.

En cuanto a la vitrosidad (figura 4.9b), a excepción de Jerez que no presentó interacción año×ambiente, los ambientes de Granada tuvieron una fuerte interacción. Muchos genotipos, tal como Mexa, Omrabi-3, Waha, Altar-aos, Jabato y Awalbit, manifestaron poca interacción sobre el eje PCA1 y parecen ser más estables. Lagost-3 fue el genotipo que más interacción presentó sobre el mismo eje, lo que indica que podría ser muy inestable en todos los ambientes.

Considerando todos los análisis de estabilidad abordados en este capítulo, en la tabla 4.5 se resumen los resultados obtenidos para cada genotipo. La media de los genotipos nos ayuda a seleccionar aquellos genotipos estables y con alto rendimiento (u otro parámetro de calidad) para la zona de estudio.

**Tabla 4.5.** Resumen de los resultados de los 5 análisis de estabilidad para el conjunto de los genotipos estudiados.

Genotipo	REND	PROT	PE	PIGM	SDS	VITR
Altar-aos	4† (4111)‡	2 (12,93)	4 (84,1)	2 (5,56)	2 (6,58)	4 (96)
Awalbit	0 (3956)	5 (13,86)	2 (83,5)	0 (5,05)	1 (5,38)	0 (91)
Jabato	2 (4411)	1 (13,03)	0 (82,5)	2 (4,88)	2 (4,41)	3 (97)
Korifla	1 (4134)	3 (12,94)	3 (81,3)	4 (4,72)	3 (6,86)	1 (93)
Lagost-3	0 (4129)	2 (13,34)	0 (81,8)	3 (4,09)	1 (4,64)	1 (87)
Mexa	1 (3911)	2 (12,86)	3 (80,5)	1 (5,26)	0 (6,45)	1 (92)
Omrabi-3	0 (4005)	1 (13,41)	4 (83,2)	0 (4,68)	1 (4,97)	2 (92)
Sebah	2 (3733)	0 (13,51)	1 (81,5)	0 (3,57)	3 (5,87)	2 (93)
Vitrón	0 (4029)	2 (12,82)	5 (82,8)	0 (4,36)	0 (6,77)	1 (92)
Waha	5 (4291)	2 (13,56)	2 (83,2)	3 (4,97)	1 (4,23)	4 (96)

† : número de análisis de estabilidad (sobre 5 análisis en total: regresión conjunta, cuadrado medio residual, varianza de estabilidad, consistencia del comportamiento y AMMI) en los que el genotipo se consideró estable.

‡ : media genotípica. Valores en cursiva son superiores a la media total de todos los genotipos  
 REND = Rendimiento en grano (kg ha<sup>-1</sup>), PROT = Contenido en proteína (%), PE = Peso específico (kg hl<sup>-1</sup>), PIGM = Contenido en pigmentos (ppm), SDS = Volumen de sedimentación (ml), VITR = Vitrosidad (%).



De esta forma, se puede observar que Altar-aos y Waha y relativamente Jabato, tuvieron rendimientos altos y estables. Awalbit y Lagost-3 fueron los mejores en cuanto al contenido en proteína. Con pesos específicos altos y estables, se pueden seleccionar Altar-aos, Omrabi-3 y Vitrón. Para el contenido en pigmentos, Altar-aos es el único que reúne, junto a un buen contenido, una estabilidad aceptable. Los genotipos que mostraron alta estabilidad junto a una buena fuerza del gluten, fueron Altar-aos, Korifla y Sebah. Por último, en cuanto a la vitrosidad, Altar-aos, Jabato y Waha resultaron ser los genotipos más estables y vítreos.

#### 4. DISCUSIÓN

De los análisis de estabilidad manejados en este apartado, el análisis de la regresión conjunta no ayudó mucho a la interpretación de los patrones de la interacción  $G \times E$ , ya que explicó menos del 31% de la suma de cuadrados de la interacción en todos los caracteres estudiados, a excepción de la vitrosidad. Esto fue debido, probablemente, a la falta de linealidad para estos datos, que confirma las observaciones de muchos autores, en los que la interacción  $G \times E$  no resultó ser función lineal del efecto ambiental, requisito necesario sobre el que se basa el método de la regresión (Zobel *et al.*, 1988; Nachit *et al.*, 1992c; Annicchiarico, 1997). Como alternativa al método de regresión, Zobel *et al.* (1988) propusieron el análisis AMMI, que en nuestro estudio resultó ser muy útil, explicando gran parte de la interacción que se acumuló mayoritariamente en el primer eje de componentes principales. Sin embargo, la fuerte interacción año  $\times$  ambiente dificultó encontrar patrones de adaptación desde el punto de vista agronómico y ambiental. Esto fue observado también por Michelena *et al.* (1995a) en trigo duro en el nordeste de España.

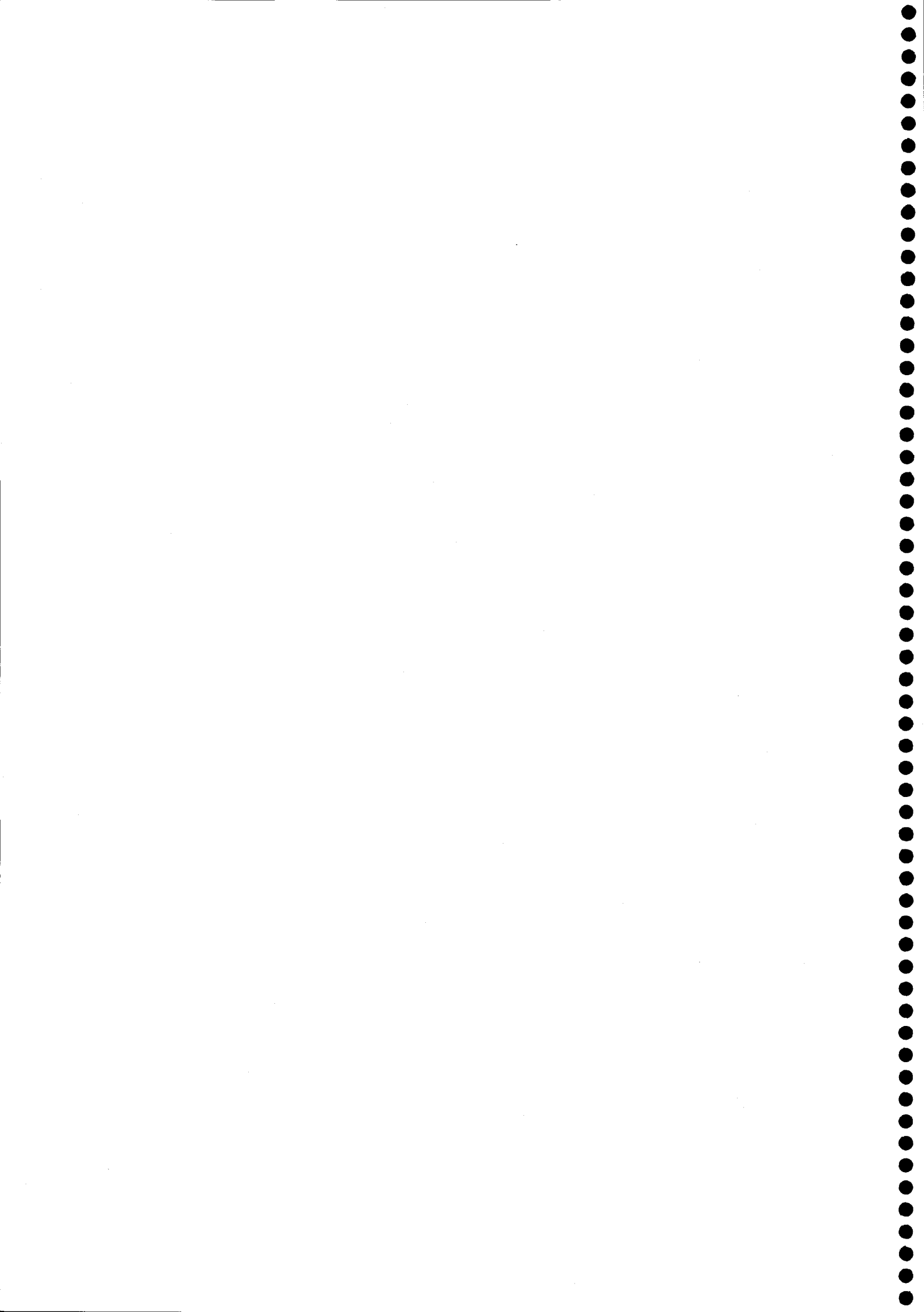
Los restantes parámetros de estabilidad ayudaron a elegir genotipos estables para los caracteres en consideración. El cuadrado medio residual de las desviaciones de la regresión ( $S^2_{di}$ ), que es una medida de las irregularidades impredecibles en las respuestas a los ambientes, ha sido propuesto como verdadera medida de estabilidad

(Langer *et al.*, 1979) en los casos donde la regresión fracasa en explicar la naturaleza de la interacción G×E. Otra alternativa univariante ha sido, en nuestro caso, la varianza de estabilidad  $\alpha^2_i$  (Shukla, 1972) que, dando una idea de la contribución de cada genotipo a la interacción, ofrece la posibilidad de seleccionar a los genotipos más estables. El método de consistencia del comportamiento (Ketata *et al.*, 1989), que tiene la ventaja de su sencillez y de ayudar además a verificar el grado de estabilidad de cada genotipo, ofreció una idea sobre el ordenamiento de los genotipos en los diferentes ambientes, y demostró, además, la existencia de un tipo cruzado o cualitativo (crossover) de interacción G×E.

La fuerte interacción G×E encontrada para el rendimiento en grano y para los parámetros de calidad, revela la importancia del estudio de la adaptación de los genotipos, ya que tanto el rendimiento como la calidad del grano resultan altamente impredecibles en nuestra zona. Por tanto, como prioridad de los programas de mejora para zonas similares a las de nuestro estudio, puede señalarse la selección para elevada adaptación de los genotipos en cuanto a su rendimiento, junto a una alta estabilidad de los parámetros de calidad del grano.

La mayoría de los análisis de estabilidad dieron resultados relativamente similares en cuanto a la selección de genotipos estables. Del conjunto de estos resultados, se deduce que la variedad comercial española Altar-aos reúne buenas propiedades tanto de rendimiento como de calidad, presentando además elevada estabilidad para ambos caracteres, resultando ser la mejor dentro de los 10 genotipos estudiados. Jabato, la variedad comercial más adaptada a Andalucía, demostró tener un alto rendimiento, pero menos estable, y una calidad aún más inestable, a pesar de presentar un alto contenido en proteína, alto peso específico y un buen porcentaje de vitrosidad. De la colección de ICARDA, Waha parece ser la única línea avanzada que demostró adaptarse bastante bien a las condiciones de nuestra zona, resultando ser de igual utilidad que Altar-aos.

# CAPÍTULO 5



## 1. INTRODUCCIÓN

La fluctuación de las precipitaciones de un año a otro y el déficit hídrico acompañado de altas temperaturas en la fase final del ciclo, son las principales limitaciones para el rendimiento de los cereales en la cuenca mediterránea.

Desde hace muchas décadas el rendimiento *per se* ha sido el único criterio de selección utilizado en los programas de mejora de los cereales (Loss y Siddique, 1994), pero esta aproximación empírica, que ha producido buenos resultados en el pasado, tiene la desventaja de basarse en un carácter (el rendimiento) que sólo se puede medir al final del ciclo de la planta.

Como complemento a la mejora tradicional o empírica, recientemente se ha propuesto un método analítico para tratar de incrementar la eficiencia de la selección para condiciones limitantes. Este método consiste en la identificación y evaluación de criterios específicos de tipo morfofisiológico relacionados con el rendimiento bajo condiciones de sequía (Richards, 1987; Turner y Nicolas, 1987; Blum, 1988; Ludlow y Muchow, 1989). Para que sean útiles en los procesos de selección, los criterios morfofisiológicos deben reunir ciertas condiciones (Austin, 1989; Acevedo, 1991a).

- Poseer mayor heredabilidad que el rendimiento.
- Mostrar una relación causa-efecto con el rendimiento.
- Estar significativamente correlacionados con el rendimiento y su estabilidad.
- Ser fáciles y rápidos de medir.

La utilidad de estos caracteres como criterio de selección es un tema controvertido. Passioura (1981) considera poco probable que un carácter simple de una planta tenga suficiente efecto para causar un incremento estadísticamente significativo en el rendimiento. La frecuente falta de éxito de la selección para un carácter simple en ambientes impredecibles donde la frecuencia, momento y severidad de los estreses son desconocidos, ha sido puesta de manifiesto por Ceccarelli *et al.* (1991). Sin embargo,

los efectos ambientales sobre el rendimiento son generalmente mayores que sobre caracteres morfológicos o fisiológicos. Muchas veces es preciso el uso de diversos mecanismos, como el riego, el uso de distintas fechas de siembra, la aplicación de desecantes químicos y otros, para examinar un parámetro en un rango de estrés hídrico (Loss y Siddique, 1994). Los parámetros morfofisiológicos parecen útiles en zonas con rendimientos superiores a  $2 \text{ t ha}^{-1}$ . En zonas menos productivas resulta más eficiente la selección directa por rendimiento, ya que la estabilidad del rendimiento suele ser prioritaria en esos ambientes (Loss y Siddique, 1994).

Recientemente, numerosos estudios sobre la respuesta de la planta a los estreses abióticos están teniendo una gran importancia en los trabajos de mejora genética. La sequía es el principal factor limitante del rendimiento en la cuenca mediterránea, sobre todo en los secanos (Royo *et al.*, 1998), por lo que incrementar la resistencia a este estrés se ha convertido en uno de los objetivos más buscados por la mayoría de los investigadores. El empleo de técnicas no-destructivas es particularmente adecuado para la detección del efecto de los estreses sobre la actividad fotosintética.

A continuación se describen algunos de los criterios morfofisiológicos que se han propuesto como herramientas a considerar para la selección de genotipos de trigo duro.

### ***Técnicas de medida de fluorescencia para el estudio de la fotosíntesis***

Cuando la energía de la luz es absorbida por las clorofilas, puede emplearse en varios procesos, siendo el más importante la fotoquímica que inicia el transporte electrónico de la fotosíntesis. También, una pequeña cantidad de la energía absorbida es emitida de nuevo a través de fluorescencia. La luz remitida en este proceso tiene una longitud de onda más larga que la absorbida, de forma que puede distinguirse de la luz reflejada mediante la utilización de filtros adecuados (Sharkey, 1993).

Si una hoja se mantiene bajo iluminación constante siempre emite la misma cantidad de fluorescencia, denominada fluorescencia basal o estable. Sin embargo,

cuando una luz intensa llega hasta las hojas después de un período de oscuridad (entre 20 y 30 minutos), la emisión de fluorescencia aumenta rápidamente desde un nivel mínimo ( $F_0$ ), pasando a través de un nivel intermedio ( $F_i$ ), hasta alcanzar un máximo ( $F_m$ ) en un tiempo variable ( $T_m$ ), decayendo después gradualmente hasta un nivel cercano al inicial. La cinética de este proceso se conoce como efecto Kautsky (Krause y Weiss, 1991). El declive del máximo de fluorescencia se denomina atrapamiento o atenuación (*quenching*) de la fluorescencia, y se produce porque los enzimas fotosintéticos son activados tras la iluminación, de forma que pueden aceptar la energía captada por las clorofilas iniciando el proceso fotosintético. Cuanta más energía se utiliza en este proceso, menos energía quedará disponible para la emisión de fluorescencia (Sharkey, 1993).

La diferencia entre la fluorescencia máxima ( $F_m$ ) y el nivel mínimo ( $F_0$ ) se conoce como fluorescencia variable ( $F_v$ ). La relación  $F_v/F_m$  refleja la actividad fotosintética del Fotosistema II (Havaux, 1993), y ha sido demostrado que es proporcional al rendimiento cuántico de la etapa fotoquímica, encontrándose, por tanto, estrechamente relacionada con el rendimiento de la fotosíntesis neta de hojas intactas (Genty *et al.*, 1989). Análogamente, el tiempo necesario para alcanzar la  $F_m$  se ha demostrado que es proporcional a la magnitud del pool de aceptores de electrones ( $e^-$ ) en el lado reductor del Fotosistema II (Öquist y Wass, 1988).

Por tanto, la importancia de la fluorescencia de la clorofila para el estudio de la fotosíntesis radica en que es posible estudiar la interacción entre el metabolismo del carbono y el transporte electrónico analizando la atenuación o *quenching* de la fluorescencia (Sharkey, 1993). Además, la técnica es no destructiva y bastante rápida, permitiendo la repetición de las medidas a lo largo del tiempo sobre la misma hoja. Por ello la fluorescencia de la clorofila ha sido propuesta como un método rápido de medida de la fotosíntesis *in vivo* (Schreiber *et al.*, 1995), así como para investigar los efectos de los estreses ambientales sobre el rendimiento fotosintético en numerosas plantas (Schreiber y Bilger, 1987), incluyendo trigo duro para resistencia a la sequía (Havaux *et al.*, 1988; Royo *et al.*, 2000).

### ***Temperatura de la cubierta***

Bajo condiciones de sequía terminal, como las que suceden habitualmente en la zona mediterránea, mantener una temperatura moderada de los órganos fotosintéticos durante la maduración de los granos constituye una característica deseable para ambientes secos. En efecto, una temperatura adecuada reduce las pérdidas de carbohidratos por respiración; disminuye la transpiración destinada a refrigerar la hoja, mejorando de esta manera la eficiencia en el uso del agua; y contribuye a limitar el daño por fotooxidación, debido al exceso de radiación que normalmente acompaña al déficit hídrico. Ello puede conseguirse mediante una mejor economía en el uso del agua o mediante características morfológicas que favorezcan la reflexión del exceso de luz.

La temperatura de la cubierta vegetal está relacionada con la cantidad de agua transpirada por el cultivo, constituyendo una medida integradora de un conjunto de mecanismos, que incluyen desde la absorción radical de agua hasta el control estomático de la transpiración (Romagosa y Araus, 1991b). Su medida es muy sencilla mediante termometría de infrarrojos y permite detectar diferencias intergenotípicas que han permitido avances en la mejora genética de los cereales (Blum, 1988).

En un conjunto de genotipos sometidos a estrés, aquellos que presenten menor temperatura de la cubierta estarán limitando mejor los efectos del déficit hídrico que aquellos que, al presentar temperaturas superiores, no están transpirando al mismo nivel; es decir, están utilizando de manera menos eficiente los recursos hídricos del suelo (Blum, 1988; Romagosa y Araus, 1991b).

La depresión de la temperatura de la cubierta vegetal (CTD), que mide la diferencia en °C entre la temperatura de la cubierta vegetal y la temperatura del aire, ha sido propuesta como una medida para evaluar la tolerancia de los genotipos de trigo a las altas temperaturas (Reynolds *et al.*, 1996). CTD refleja indirectamente la transpiración instantánea a nivel de todo el cultivo (Blum *et al.*, 1989; Reynolds *et al.*, 1994, 1997) y ha sido asociada en trigo a la conductancia estomática y la tasa fotosintética de las hojas (Pinter *et al.*, 1990; Amani *et al.*, 1996; Fischer *et al.*, 1998).



CTD ha sido propuesta por su rápido y fácil manejo como el mejor criterio para evaluar el uso de agua y el rendimiento del cultivo (Blum, 1988, Pinter *et al.*, 1990). Además, durante los últimos años, buenos resultados de CTD han sido reflejados en los trabajos del CIMMYT para trigos harinero (Fischer *et al.*, 1998; Reynolds *et al.*, 1999, 2000).

### **Contenido de clorofilas**

Bajo elevadas irradiaciones luminosas, como las que normalmente se presentan durante la maduración de los granos en el área mediterránea, un elevado contenido de clorofilas totales parece constituir una característica deseable, con objeto de reducir la fotoinhibición de los sistemas fotosintéticos y la consiguiente disminución en la producción de asimilados con destino a los granos en crecimiento (Farquhar *et al.*, 1989a).

Una forma fácil y rápida de cuantificar el contenido de clorofilas es mediante el medidor portátil SPAD 502 desarrollado por Minolta y extensivamente utilizado en los últimos años, especialmente para controlar la nutrición nitrogenada en diversos cultivos (Peltonen *et al.*, 1995; Neilsen *et al.* 1995; Ma y Dwyer, 1997). Además, los valores SPAD se encuentran correlacionados con diversos parámetros que definen el rendimiento fotosintético, tales como la estructura foliar y la discriminación isotópica del C (Araus *et al.*, 1997b y c), la tasa de fotosíntesis (Ma *et al.*, 1995) o la absorción de radiación fotosintéticamente activa (Earl y Tollenaar, 1997).

### **Discriminación isotópica del carbono $^{13}\text{C}$ ( $\Delta$ )**

En plantas  $\text{C}_3$ , como el caso de los cereales de clima templado, la determinación del carbono  $^{13}\text{C}$  en grano proporciona una medida integrada (aunque destructiva) de la relación entre la presión intercelular y la presión atmosférica del  $\text{CO}_2$  ( $p_i/p_a$ ), y, por tanto, de la eficiencia en el uso del agua ( $WUE$ ) durante el periodo de crecimiento previo a su determinación (Farquhar y Richards 1984). En los cereales, el régimen hídrico durante el llenado del grano afecta en gran medida a los valores de  $\Delta$  en los granos (Craufurd *et al.*, 1991; Romagosa y Araus 1991b; Araus *et al.*, 1997a). Los

factores medioambientales regulan la conductancia estomática y la fotosíntesis. Así, la falta de agua, junto a una elevada evapotranspiración, disminuyen la relación ( $\pi/pa$ ), y, como consecuencia, tienden a disminuir la  $\Delta$  (Farquhar y Richards 1984; Condon *et al.*, 1992). Por consiguiente, del análisis de  $\Delta$  en granos, en principio, es posible conocer el estado hídrico de la planta durante el llenado del grano (Araus *et al.*, 1997a).

Se ha demostrado que existe una gran variabilidad genética para  $\Delta$  en trigo duro (Araus *et al.*, 1993a, 1998) y que en condiciones adecuadas de cultivo posee alta heredabilidad y repetibilidad, junto a una baja interacción genotipo x ambiente. Todo ello la convierte en un carácter prometedor para mejorar la eficiencia en el uso del agua, sobre todo en ambientes sin limitaciones hídricas (Richards y Condon, 1993; Villegas, 2000). En condiciones de secano, su medida en los primeros estadios del cultivo reflejaría las diferencias intergenotípicas, mientras que la interacción genotipo x ambiente sería elevada cuando se analiza  $\Delta$  en materiales vegetales maduros o en las fases terminales del cultivo (grano o pedúnculo).

Además del estado hídrico, otros factores medioambientales, aunque en menos medida, podrían afectar la  $\delta^{13}C$  de las plantas  $C_3$ . Así, se ha sugerido que las diferencias en el tipo de fuente de abonado nitrogenado pueden modificar la contribución relativa de otras carboxilasas que no sean la Rubisco en la fijación de carbono, modificando la  $\delta^{13}C$  de las plantas (Farquhar *et al.*, 1989b), lo que comportaría valores de  $\delta^{13}C$  mayores (más positivos) en las plantas cultivadas con  $NO_3^-$  en comparación con las cultivadas utilizando  $NH_4^+$ . Sin embargo, resultados recientes (Martínez-Carrasco *et al.*, 1998) parecen contradecir dicha pauta.

Diversos estudios han demostrado que la  $\Delta$  en granos maduros está positivamente correlacionada con el rendimiento y la biomasa total en trigo (Morgan *et al.*, 1993; Araus *et al.*, 1993b, 1998), tanto en condiciones de secano como de regadío, si bien en secano esta correlación es menor (Royo *et al.*, 2001). Una alta  $\Delta$  en granos maduros puede estar relacionada con una mayor transpiración durante el llenado del grano, en cuyo caso se correlaciona positivamente con la temperatura de la cubierta (Araus *et al.*, 1993b). Sin embargo, a nivel foliar, una baja  $\Delta$  y, por tanto, una elevada

*WUE* no siempre se traducen en mayores rendimientos, por lo que todavía se necesita profundizar en el estudio de las relaciones entre  $\Delta$  y el crecimiento en ambientes específicos (Richards, 1995).

### ***Mejora del rendimiento vía incrementos en la biomasa***

La mejora del rendimiento en grano en trigo ha sido asociada en las últimas décadas a un aumento paralelo en el índice de cosecha. Este carácter ha llegado a sus valores máximos y no existen señales de que se pueda mejorar ya que el cultivo debe mantener una cantidad mínima de biomasa para la asimilación y proporcionar un soporte físico para los órganos reproductivos. Este valor máximo del índice de cosecha ha sido estimado en 0,60 (Austin *et al.*, 1980; Slafer y Andrade, 1991). Aumentos en el rendimiento deben, entonces, realizarse por aumentos en la biomasa. Este tema ha sido muy estudiado en los últimos años y se han propuesto muchas herramientas fisiológicas para alcanzar un máximo de biomasa. El incremento de la interceptación de la radiación por el cultivo es uno de los mecanismos que pueden resultar en un aumento en la biomasa. El hecho de que los principales órganos interceptores de la luz sean las hojas hace que el principal carácter a aumentar sea el índice de área foliar (Slafer *et al.*, 1999). La eficiencia en el uso de la radiación ha sido también propuesta para el incremento de la biomasa. Esto se debe a una mejora en la actividad fotosintética foliar, ya que está establecido que la mayoría de la biomasa seca se produce por la fotosíntesis de las hojas. Austin (1992) comentó que los futuros incrementos en el rendimiento deben de hacerse por aumentos en la fotosíntesis foliar. Sin embargo, varios estudios han subrayado la relación negativa entre la fotosíntesis de las hojas y el área foliar (Rawson *et al.*, 1993; Morgan *et al.*, 1990) y se ha manifestado que una selección para una elevado fotosíntesis foliar provoca una reducción en el área foliar (Bhagsari y Brown, 1986) debido a efectos compensatorios de tipo pleiotrópico (Austin, 1989). Sin embargo, algunos estudios han demostrado en trigo que existe el potencial genético para combinar altas tasas fotosintéticas y un elevado índice de área foliar (Carver y Nevo, 1990; Morgan y LeCain, 1991).

La biomasa seca en antesis ha suscitado también interés en los mejoradores por su importante papel en el rendimiento final de los cereales. Durante bastante tiempo se ha considerado que los carbohidratos almacenados en la preantesis contribuían entre el 10 y 20% aproximadamente al peso final del grano (Thorne, 1966; Gallagher et al, 1975), evidencia indirecta basada principalmente en que tallos y hojas perdían muy poco peso seco y carbohidratos durante el llenado de los granos (Thorne, 1966). Sin embargo, numerosos estudios recientes han demostrado que dicha contribución es válida únicamente bajo condiciones favorables o en ausencia de estrés hídrico, ya que en años secos y calurosos aumenta notablemente, llegando a ser mayoritaria para el llenado del grano, presumiblemente porque la fotosíntesis después de la emergencia de la espiga se encuentra muy restringida debido a la falta de agua, y porque la demanda de asimilados por los granos en desarrollo es muy alta bajo condiciones de elevada temperatura (Stoy, 1979; Biscoe *et al.*, 1975; Austin *et al.*, 1980; Lawlor *et al.*, 1981; Craufurd *et al.*, 1987; García del Moral *et al.*, 2001).

La contribución de las reservas al llenado del grano en cereales puede estimarse mediante el método propuesto por Blum *et al.* (1983a), consistente en pulverizar un agente químico con alta capacidad de desecación para imposibilitar la actividad fotosintética de la planta después de la antesis, pero manteniendo la planta viva y sin alterar su capacidad de translocación.

Actualmente, se considera que en ausencia de estrés ambiental, las reservas vegetativas contribuyen con alrededor del 10% al peso final del grano en los cereales, consistiendo principalmente en sustancias nitrogenadas. Por el contrario, cuando aparecen circunstancias de estrés, esta contribución llega a ser del 50% o incluso más elevada, tanto en forma de sustancias nitrogenadas como de carbohidratos ( Stoy, 1979; Austin *et al.*, 1980; Pheloung y Siddique, 1991). Sin embargo, Bidinger *et al.* (1977) utilizando  $^{14}\text{C}$  encuentran valores del 12% para cultivos de cebada con buen suministro hídrico y no superiores al 22% bajo condiciones de sequedad.

La gran importancia de las reservas de la preantesis para el llenado del grano en áreas secas y calurosas, como el sur de España, viene apoyada por las elevadas

correlaciones estadísticas encontradas entre la producción de grano y el peso seco del cultivo en el momento de máximo desarrollo del área foliar en cebada (Ramos *et al.*, 1985; Ramos *et al.*, 1989; Gracia del Moral *et al.*, 2001), es decir alrededor de la antesis. En este momento se suele producir una elevada acumulación de fotoasimilados en los órganos vegetativos debido a que las condiciones ambientales son óptimas para la fotosíntesis (elevada radiación, humedad suficiente y temperatura del aire moderada), mientras que el crecimiento vegetativo casi ha finalizado y aún no se ha iniciado el desarrollo de los granos; es decir, apenas si existen sumideros consumiendo esos asimilados. Esta situación puede durar unas dos semanas aproximadamente, lo que permite a la planta acumular carbohidratos que podrán ser posteriormente translocados en cantidad suficiente para cubrir la demanda de asimilados por los granos en desarrollo y que una actividad fotosintética restringida no puede suministrar. En este sentido, los carbohidratos almacenados en la paja de los cereales durante la preantesis actuarían como "agentes tamponantes" del rendimiento, tendiendo a estabilizar el peso de los granos independientemente de la fluctuación en los factores ambientales durante la maduración.

Los objetivos de este capítulo han consistido en:

- (i) Caracterizar los ambientes del experimento en cuanto a variables climáticas y tipos de sequía ocurridos a lo largo del ciclo de la planta.
- (ii) Evaluar la magnitud de los efectos del genotipo y del ambiente (año y régimen hídrico) sobre los distintos caracteres estudiados.
- (iii) Analizar la relación del rendimiento en grano con los caracteres estudiados, con el propósito de identificar aquellos más prometedores para la mejora del rendimiento bajo condiciones mediterráneas.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el apartado de material y métodos del Capítulo 1 se detallan los experimentos realizados. A continuación se expone la metodología más específica de este Capítulo.

## 2.1 Caracteres medidos

### 2.1.1 Rendimiento en grano

Se determinó a partir de la cosecha de cada parcela en todos los ensayos y un posterior ajuste a una humedad de 12%, expresándose en  $\text{kg ha}^{-1}$ .

### 2.1.2 Componentes del rendimiento

Se determinaron a partir de la cosecha de 1 metro lineal de cada parcela en un muestreo previo a la recolección. Para ello, se contó el *número de espigas* contenidas en el metro lineal y se expresó luego por  $\text{m}^2$ . Sobre 10 plantas seleccionadas dentro de cada metro lineal se determinó el *número de granos por espiga*, desgranando las espigas contenidas en la sub-muestra de 10 plantas. La *altura* del tallo principal se midió en las 10 plantas desde el suelo hasta la base de la espiga. Posteriormente y sobre una muestra de granos cosechados en la recolección, se determinó el *peso de mil granos*, mediante 3 pesadas de 100 granos seleccionados usando un contador fotoeléctrico de granos de la casa Pfeuffer.

### 2.1.3 Fenología

La fecha de antesis se estimó cuando el 50% de las espigas en cada parcela presentaba las anteras en la base de la espiga. La fecha de madurez se determinó cuando el pedúnculo del 50% de las espigas en la parcela cambia del color verde al amarillo. Se calcularon después el número de días desde la siembra hasta antesis y desde la antesis hasta la madurez.

### 2.1.4 Índices de crecimiento

Se calcularon a base de muestreos de biomasa realizados en dos momentos del ciclo de la planta (antes y madurez). En cada muestreo, se recogieron las plantas contenidas en medio metro de uno de los surcos centrales de cada parcela. Esto sirvió para determinar el número de plantas por unidad de superficie. Posteriormente y sobre una sub-muestra de 5 plantas de cada parcela, se estimó la superficie foliar utilizando un planímetro fotoelectrónico LICOR, LI-3000 Portable Area Meter, fabricado por Lambda Instruments Corporation; se obtuvo, también el peso seco de hojas, tallos y espigas después de secado en estufa de aire forzado a 70-80 °C, hasta peso constante.

El análisis del crecimiento vegetal, desarrollado principalmente por la escuela inglesa en el presente siglo, constituye una metodología ideada para estimar la producción fotosintética neta de las plantas aisladas o de los cultivos, permitiendo su interpretación sobre bases fisiológicas. Esta metodología considera el crecimiento, entendido como el incremento en peso seco, como el resultado de la capacidad de la planta o cultivo para interceptar la radiación luminosa (es decir, del tamaño que alcance su aparato asimilador), de su eficiencia en la producción de materia seca y del tiempo en que se mantenga fotosintéticamente activa. Características que pueden ser cuantificadas mediante una serie de índices calculados desde los valores primarios establecidos en dos recogidas sucesivas de material vegetal, a intervalos que oscilan normalmente entre 1 y 4 semanas. En este capítulo se utilizará la terminología anglosajona por haber sido aceptada internacionalmente. Los símbolos N, A y W corresponden al número de plantas m<sup>2</sup>, área foliar y peso seco total, referidos a dos recogidas realizadas en los tiempos t<sub>1</sub> (antes) y t<sub>2</sub> (madurez).

*a- Índice de área foliar (Leaf Area Index, LAI)*

Representa una medida del aparato asimilador en relación al área de terreno (Watson, 1947a). Ha sido calculado en cada toma de muestras mediante la expresión:

$$LAI = N \times A \text{ (área foliar/área de terreno)}$$

Este índice aumenta con el desarrollo del cultivo hasta un máximo, que en los cereales suele coincidir con la aparición de la hoja bandera, decreciendo posteriormente. Sin embargo, si se añade al área de las hojas la de los tallos y espigas (*Green Area Index*), el máximo de área foliar por planta suele situarse alrededor de la antesis (Villegas, 2000). Esta variación estacional se debe principalmente a cambios en el área foliar por planta y, en menor medida, en el número de plantas, el cual tiende a disminuir con el crecimiento del cultivo en condiciones de campo, aunque en trigo duro se ha señalado (Villegas, 2000) la existencia de un mecanismo de compensación entre el área foliar y la densidad de plantas que tiende a amortiguar las diferencias de área foliar entre genotipos.

En cereales, LAI incrementa con las disponibilidades de N (especialmente en aplicación temprana) a través del aumento en el número y tamaño de las hojas, así como en el número de tallos hijos (García del Moral *et al.*, 1984; Ramos *et al.*, 1985); con el suministro de P y K, que estimulan el tamaño de las hojas y retrasan su senescencia y con la irrigación. Por el contrario, el área foliar y LAI decrecen con el incremento en iluminación o el retraso en la fecha de siembra y con la sequía, incluso a niveles moderados.

*b- Biomasa o peso seco del cultivo (Crop Dry Weight, CDW).*

Representa, en términos absolutos, la producción de materia seca del cultivo por unidad de superficie de terreno (Warren Wilson, 1981):

$$CDW = N \times W \text{ (peso/área de terreno).}$$

Este índice constituye el factor de proporcionalidad que relaciona el crecimiento de las plantas individuales con el crecimiento del cultivo.

*c- Duración del área foliar (Leaf Area Duration, LAD).*

El índice de área foliar es una medida del tamaño del aparato asimilador en un instante determinado, pero no tiene en cuenta el tiempo durante el cual es activo en la



producción de materia seca. Por esta razón, Watson en 1947 sugirió que la integral del área bajo la curva de LAI frente al tiempo, a la que denominó duración del área foliar, podía suministrar una buena medida de la capacidad de los cereales para producir y mantener su área foliar, y por tanto, de su oportunidad total para la asimilación. Si se desea calcular exactamente el valor de LAD debe conocerse la ecuación de la curva del área foliar o de LAI durante todo el desarrollo del cultivo. Sin embargo, cuando sólo se dispone de un número limitado de observaciones puede realizarse una aproximación gráfica considerando el valor de LAD como el área del trapecio que, bajo la curva de LAI frente al tiempo, delimitan las fechas consideradas; para el período de maduración las de antesis (LAIa) y madurez (LAI<sub>m</sub>) (Kvet *et al.*, 1971):

$$LAD = \frac{LAIa + LAIm}{2} \times (tm - ta) \text{ (tiempo)}$$

La ecuación anterior expresa en términos cuantitativos como mantiene el cultivo su superficie asimiladora activa durante la maduración, encontrándose buenas correlaciones con la producción de grano en numerosos cereales de zonas húmedas o bajo condiciones de irrigación.

### 2.1.5 Temperatura de la cubierta vegetal

La temperatura de la cubierta vegetal se ha determinado mediante un termómetro de infrarrojos [INFRATRACE KM800S de la casa Kane May], en la época de antesis. Para ello se han realizado 5 lecturas por parcela, calculándose posteriormente la media. El ángulo de medida fue de 30° respecto a la horizontal.

El fundamento teórico de las medidas se basa en el hecho de que la hoja se comporta como un cuerpo negro, emitiendo un flujo de radiación ( $\Phi$ ) que es función de la cuarta potencia de su temperatura absoluta, de acuerdo a la ley de Stefan-Boltzmann:

$$\Phi = \varepsilon \cdot \sigma \cdot T^4$$

donde  $\epsilon$  es la emisividad (entre 0 y 1) o capacidad de irradiación de la hoja con respecto a un cuerpo negro ideal,  $\sigma$  es la constante de Stefan-Boltzmann ( $5.6 \times 10^{-8} \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-4}$ ) y  $T$  se expresa en °K. El termómetro mide el flujo de radiación  $y$ , a partir de esta expresión, calcula la temperatura de la superficie radiante en °C.

Posteriormente se calculó la depresión de la temperatura de la cubierta vegetal (*Crop Temperature Depression*, CTD) como la diferencia en °C entre la temperatura de la cubierta vegetal y la del aire en cada parcela.

### 2.1.6 Contenido total de clorofilas

Las clorofilas totales se han determinado mediante el medidor portátil [SPAD-502, *Soil-Plant Analysis Development* (SPAD), Minolta Camera Co., Osaka, Japan]. El fundamento de la medida se basa en registrar la luz transmitida por la hoja en dos regiones del espectro, donde la absorción por parte de las clorofilas es muy diferente. Para ello, el aparato utiliza dos LEDs (*Light emitting diodes*), uno rojo (con un pico de emisión a 650 nm de  $\lambda$ ) y otro infrarrojo (cuya máxima emisión se sitúa a 940 nm de  $\lambda$ ). La fracción de esta luz que es transmitida por la hoja se recoge mediante un fotodiodo de silicio, se convierte a una señal eléctrica analógica y se procesa para ser convertida a unidades SPAD (relativas), de contenido de clorofila total (a + b) presente en la hoja.

Las medidas experimentales se han realizado en la época de antesis. En cada genotipo y repetición se realizaron al menos 10 medidas sobre la cara adaxial de la hoja bandera de plantas seleccionadas al azar y que no presentasen síntomas de enfermedades o deterioro. Los datos utilizados para este estudio corresponden a la media de cada grupo de medidas, obtenida mediante la función “*average*” del equipo. Los valores presentados son unidades SPAD, es decir, relativas.

### 2.1.7 Fluorescencia rápida de la clorofila

Las medidas se han realizado usando un fluorímetro [*Plant Efficiency Analyser*, PO2.002 (PEA) de la casa Hansatech Instruments Ltd, England]. Para ello, en cada ambiente y aproximadamente una semana después de la anthesis, se seleccionaron 3 plantas al azar en cada parcela, sobre las que se midió la fluorescencia en la cara adaxial de la hoja bandera. Dado que un requisito imprescindible es una óptima adaptación del material vegetal a la oscuridad, siguiendo las instrucciones del equipo, se encontró que era suficiente una adaptación de 20 minutos, tiempo que fue usado para todas las medidas. La iluminación se aplicó mediante 6 LEDs (*Light emitting diodes*) a una intensidad saturante de  $2400 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , correspondientes a una luz actínica no modulada, con un pico a 650 nm de  $\lambda$ , recogándose la fluorescencia emitida durante un tiempo de 5 segundos.

Una vez realizadas las correspondientes medidas en el campo, los datos se almacenan en la memoria del aparato para su transferencia al ordenador. Los parámetros de fluorescencia determinados por el PEA son: la fluorescencia basal ( $F_0$ ), fluorescencia máxima ( $F_m$ ), fluorescencia variable ( $F_v$ ) que corresponde a la diferencia entre la fluorescencia máxima y la fluorescencia basal [ $F_v = F_m - F_0$ ] y la relación entre fluorescencia variable y fluorescencia máxima ( $F_v/F_m$ ).

### 2.1.8 Discriminación isotópica del carbono $^{13}\text{C}$

Para el análisis de la discriminación isotópica del  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ), se trituroó una muestra de grano limpio de cada parcela procedente de la cosechadora, siendo etiquetadas y enviadas para su análisis a los servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona. Para determinar la relación  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , se ha empleado un Analizador Elemental Carlo Erba 1108 acoplado a un Espectrómetro de Masas de Relación Isotópica modelo Delta C de Finnigan Mat.

Los resultados se expresaron como valores  $\delta^{13}\text{C}$  donde:

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \times 1000$$

Siendo R la relación  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ .

Se ha utilizado un estándar secundario calibrado contra carbonato cálcico de belemnites (PDB) procedente de la formación Peedee de Carolina del Norte USA. La precisión del análisis fue de  $\pm 0,10 \text{ ‰}$ .

Los valores de la discriminación isotópica del  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ), expresados en ‰, se han obtenido de  $\delta_a$  y  $\delta_p$ , donde a y p corresponden al aire y la planta respectivamente (Farquhar *et al.*, 1989b):

$$\Delta = \frac{\delta_a - \delta_p}{1 + \delta_p}$$

Frente al PDB, el  $\text{CO}_2$  atmosférico presenta una desviación,  $\delta_a$ , de, aproximadamente  $-8,0 \text{ ‰}$  (Farquhar *et al.*, 1989b).

## 2.2 *Análisis estadístico*

### 2.2.1 **Calculo de la ETo**

El cálculo de la evapotranspiración de referencia (ETo) se realizó mediante el programa informático PC-program ETO (Snyder y Pruitt, 1991) versión 1.04 (revisada en febrero, 1994). Para ello se utilizaron las temperaturas medias mínimas y máximas mensuales correspondiente al periodo siembra-recolección. Se utilizaron también los

datos de precipitaciones y riego junto a los de temperatura y ETo para la construcción de las gráficas climáticas correspondientes a cada ensayo en los tres años.

### **2.2.2 Análisis de la Varianza**

Después de comprobar la homogeneidad de las varianzas del error de cada ensayo por separado según el test de Bartlett, se realizó un análisis de la varianza combinado del conjunto de datos de tres años y tres ambientes para todos los caracteres en consideración.

### **2.2.3 Efecto del año y régimen hídrico sobre los caracteres estudiados**

Para ello, se realizó una comparación de medias entre años y ambientes y se comprobaron las diferencias entre ellas por el test *t* de las mínimas diferencias significativas a un nivel de probabilidad del 5%. Se calcularon, además, los valores de heredabilidad en sentido amplio (Hallauer y Miranda, 1981), después de estimar los componentes de las varianzas genotípicas, de la interacción genotipo × ensayo y la del error, usando el procedimiento Varcomp del paquete estadístico SAS/STAT (SAS Inc, 1997).

### **2.2.4 Estudio de la relación entre el rendimiento y los otros caracteres**

#### *a- Estudio por correlación:*

Sobre las medias genotípicas en cada ensayo se calcularon los coeficientes de correlación entre el rendimiento en grano y algunos caracteres estudiados. También se estudió la relación en cada ambiente del rendimiento en grano con la depresión de la temperatura de la cubierta en anthesis (CTDa) y la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ).

b- *Análisis por coeficientes de sendero.*

Para los tres ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez), se realizó un análisis por coeficientes de sendero utilizando los seis caracteres: (i) periodo vegetativo, (ii) número de espigas  $m^{-2}$ , (iii) periodo del llenado del grano, (iv) número de granos por espiga, (v) peso de mil granos, y (vi) rendimiento en grano. Los coeficientes de sendero se calcularon a partir de la matriz de correlación generada para cada ambiente y aplicando el método descrito en García del Moral *et al.* (1991). Se construyó, pues, un diagrama ontogénico de los seis caracteres y se resolvieron los 4 sistemas de ecuaciones siguientes para el cálculo de los coeficientes de sendero:

$$\begin{aligned} r_{26} &= P_{26} + r_{24} P_{46} + r_{25} P_{56} \\ r_{46} &= r_{24} P_{26} + P_{46} + r_{45} P_{56} \\ r_{56} &= r_{25} P_{26} + r_{45} P_{46} + P_{56} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{25} &= P_{25} + r_{23} P_{35} + r_{24} P_{45} \\ r_{35} &= r_{23} P_{25} + P_{35} + r_{34} P_{45} \\ r_{45} &= r_{24} P_{25} + r_{34} P_{35} + P_{45} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{14} &= P_{14} + r_{12} P_{24} + r_{13} P_{34} \\ r_{24} &= r_{12} P_{14} + P_{24} + r_{23} P_{34} \\ r_{34} &= r_{13} P_{14} + r_{23} P_{24} + P_{34} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r_{13} &= P_{13} + r_{12} P_{23} \\ r_{37} &= r_{12} P_{13} + P_{23} \end{aligned}$$

En la ecuación  $r_{13} = P_{13} + r_{12} P_{23}$ ,  $P_{13}$  es el efecto directo del carácter 1 sobre 3 (el coeficiente de sendero), mientras que  $r_{12} P_{23}$  es el efecto indirecto del carácter 1 sobre 3 vía 2. Definiciones similares pueden aplicarse a las otras ecuaciones. El sistema causa-efecto fue estimado basándonos sobre la ontogenia de la planta del trigo y se muestra en la figura 5.5 (apartado de resultados página 164).

### 3. RESULTADOS

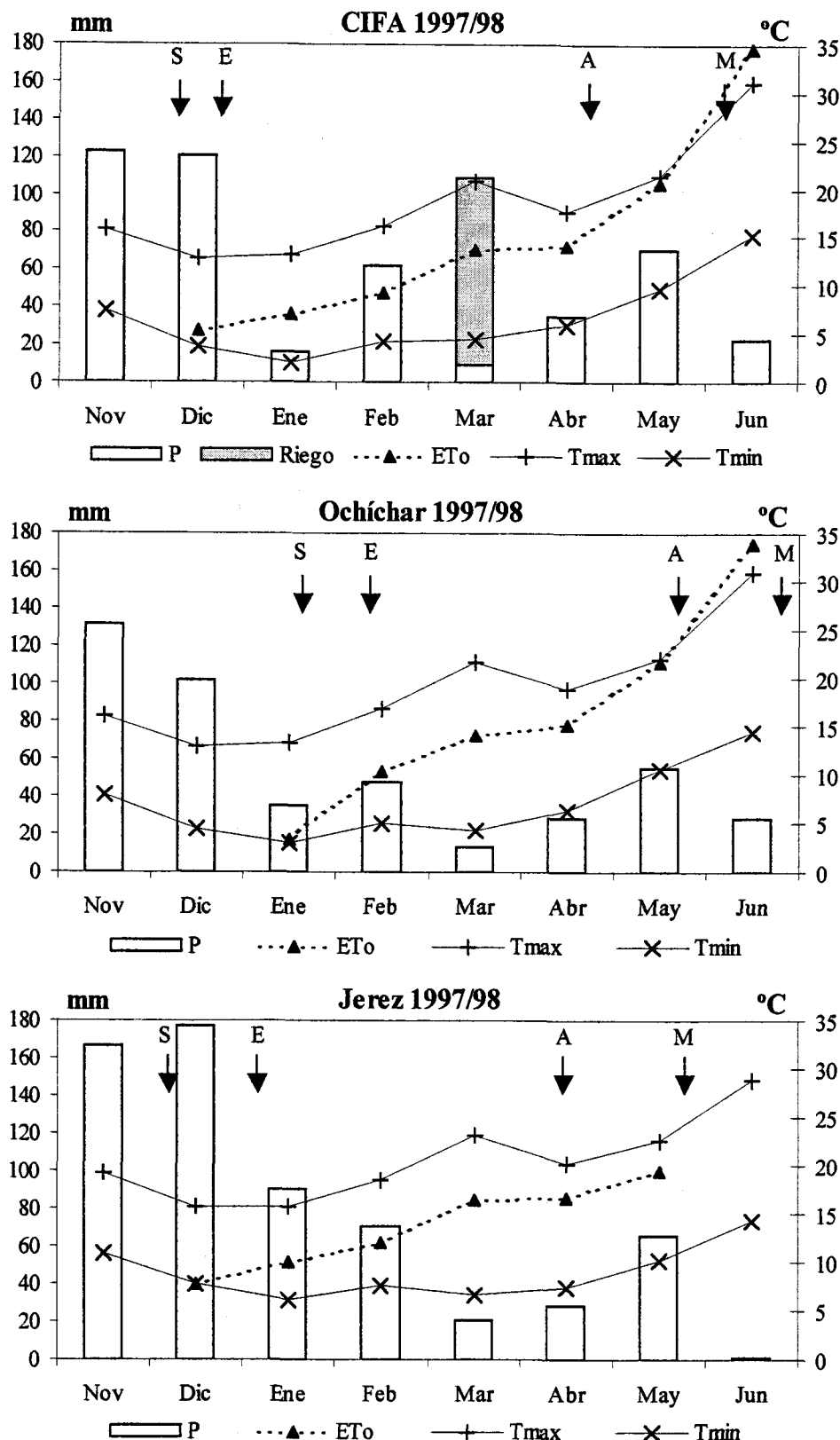


Figura 5.1. Caracterización climática de los ensayos realizados durante la campaña agrícola 1997/98. P: Precipitaciones (mm), Tmax: temperaturas máximas medias (°C), Tmin: temperaturas mínimas medias (°C), ETo: evapotranspiración de referencia (mm). S: siembra, E: emergencia, A: antesis, M: Madurez.

### **3.1 Caracterización climática de los ensayos**

En general, los ensayos de la provincia de Granada (CIFA y Ochíchar) se caracterizaron por inviernos más fríos y temperaturas de final de ciclo más altas que los de la provincia de Jerez. En cuanto a las precipitaciones, se registraron más cantidades en Jerez debido a la influencia atlántica. Entre años, la campaña 1997/98 se caracterizó por inviernos más cálidos que las de 1998/99 y 1999/00, donde se registraron temperaturas bajo 0° C durante los meses de enero y febrero. Además, la primera campaña fue más lluviosa que los dos siguientes años (más de 440 mm en todos los ensayos). A continuación se procede a la caracterización de cada ensayo en cuanto al tipo de estrés que se ha presentado a lo largo del ciclo del cultivo.

#### ***Campaña 1997/98:*** (figura 5.1)

El ensayo del CIFA permitió buenas condiciones de crecimiento ya que, por la abundancia de lluvias durante la primera fase de ciclo y el riego suministrado al cultivo en el momento de encañado (riego de apoyo), las plantas aparentemente no sufrieron estrés, salvo al final del ciclo, cuando la pérdida de agua por evapotranspiración superó a la cantidad de agua disponible para el cultivo. En el ensayo de Ochíchar, por el contrario, la escasez de las precipitaciones en la mitad y final de ciclo, acompañada de elevadas temperaturas y pérdidas importantes de agua por evapotranspiración, hicieron que las plantas sufriesen, en general, una sequía de mitad y final de ciclo. En el ensayo de Jerez, la falta de agua registrada a mitad de ciclo (marzo y abril), fue atenuada por la cantidad de agua almacenada en el suelo durante la primera fase del cultivo y las temperaturas moderadas de los meses de marzo y abril, que redujeron las pérdidas por evapotranspiración. Al final de ciclo, las precipitaciones del mes mayo ayudaron a que las plantas terminasen su desarrollo en buenas condiciones.

#### ***Campaña 1998/99:*** (figura 5.2)



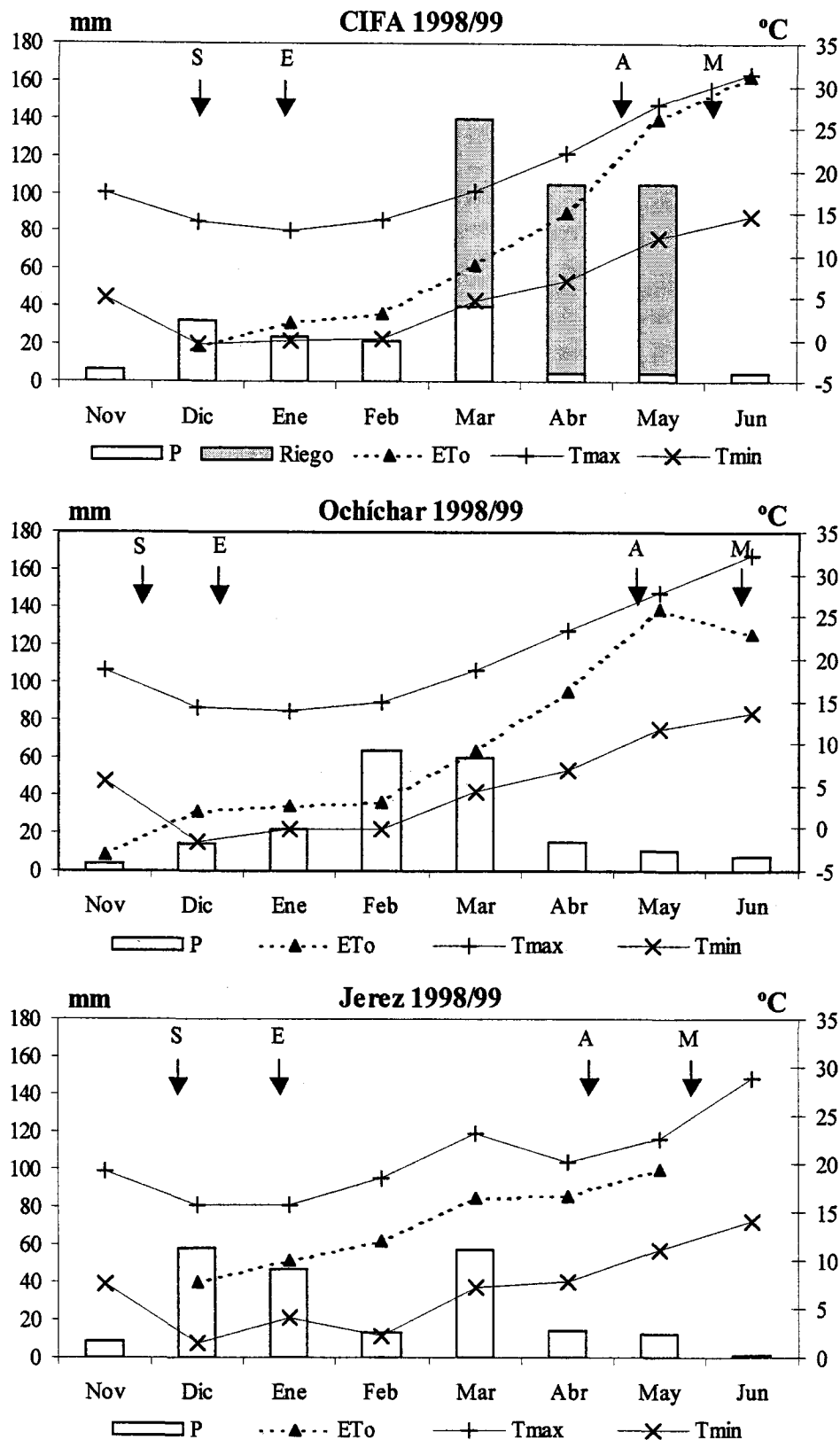


Figura 5.2. Caracterización climática de los ensayos realizados durante la campaña agrícola 1998/99. P: Precipitaciones (mm), Tmax: temperaturas máximas medias (°C), Tmin: temperaturas mínimas medias (°C), ETo: evapotranspiración de referencia (mm). S: siembra, E: emergencia, A: antesis, M: Madurez.

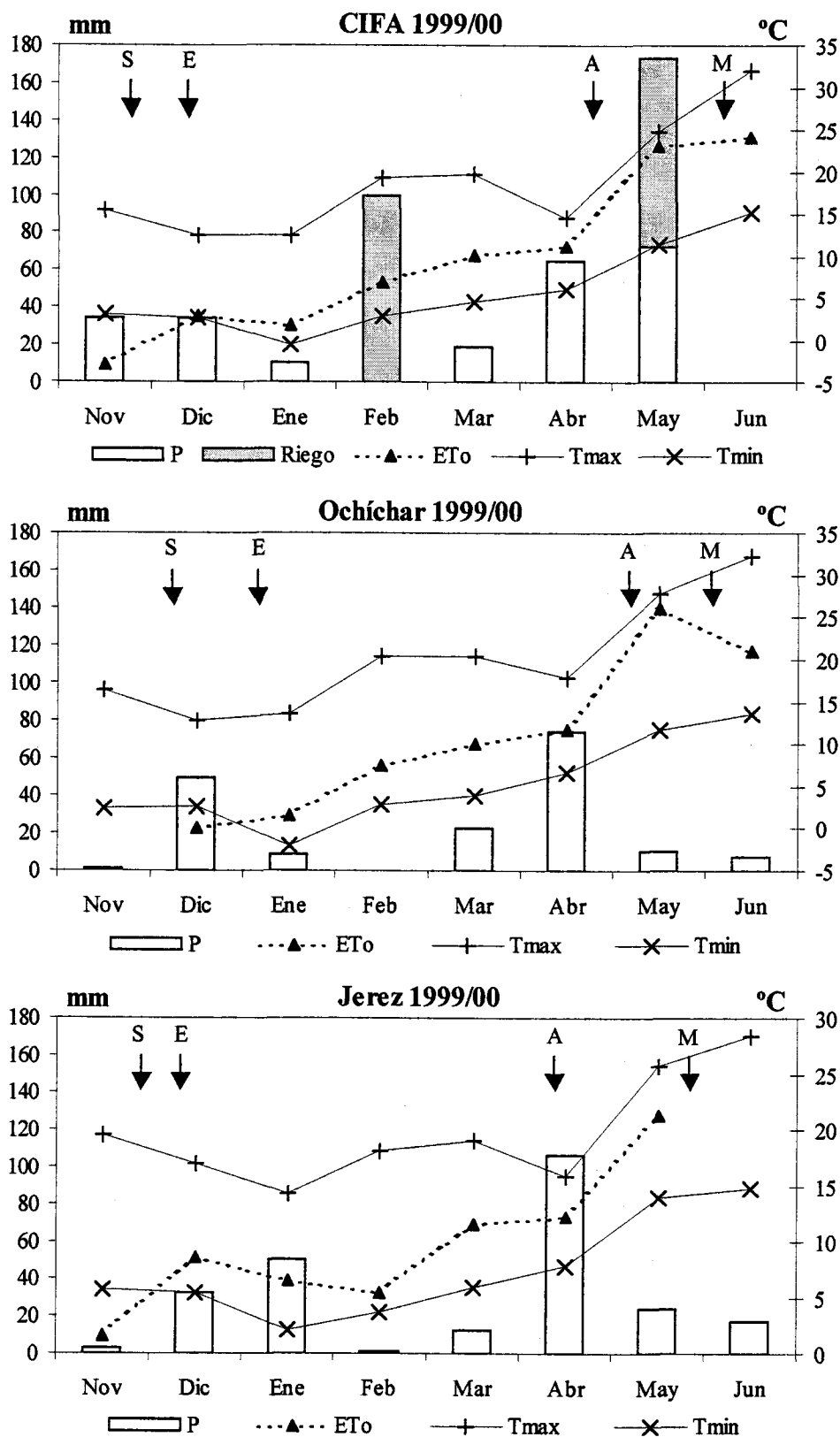


Figura 5.3. Caracterización climática de los ensayos realizados durante la campaña agrícola 1999/00. P: Precipitaciones (mm), Tmax: temperaturas máximas medias (°C), Tmin: temperaturas mínimas medias (°C), ETo: evapotranspiración de referencia (mm). S: siembra, E: emergencia, A: antesis, M: Madurez.

En el ensayo del CIFA, la falta de agua en la primera fase de ciclo acompañada de bajas temperaturas (valores bajo 0 °C en los meses de diciembre, enero y febrero), causaron un estrés de sequía y heladas de principio de ciclo. Los riegos suministrados al cultivo en los meses de marzo, abril y mayo, atenuaron relativamente la escasez de agua registrada durante este periodo, aunque pudo existir un estrés de final de ciclo, debido a que las pérdidas por evapotranspiración superaron la cantidad de agua suministrada (mes de mayo). De igual modo, el ensayo de Ochíchar se caracterizó por un estrés hídrico de principio de ciclo, acompañado por temperaturas bajo 0°C. En la mitad del ciclo, las precipitaciones de los meses de febrero y marzo permitieron la recuperación del cultivo, que volvió a sufrir la sequía de final de ciclo acompañada de elevadas temperaturas. A diferencia de los ensayos de Granada (CIFA y Ochíchar), el ensayo de Jerez no presentó estos contrastes climáticos de principio de ciclo (sequía y bajas temperaturas), ya que se registraron cantidades aceptables de agua en diciembre, enero y marzo, acompañadas por temperaturas invernales cálidas, que permitieron un buen establecimiento del cultivo hasta la antesis. En el final de ciclo, las plantas sufrieron de una escasez de agua acompañada por altas pérdidas evapotranspiratorias.

### *Campaña 1999/00: (figura 5.3)*

El ensayo del CIFA presentó, en general, y gracias a los riegos de febrero y mayo, buenas condiciones para el desarrollo del cultivo durante todo el ciclo, a excepción de un posible estrés hídrico y térmico registrado en el mes de marzo. El ensayo de Ochíchar se caracterizó por sequía a principio y mitad del ciclo, debida a la escasa cantidad de agua disponible para el cultivo en los meses de febrero y marzo. La fase de antesis se desarrolló bajo buenas condiciones, debido a las precipitaciones del mes de abril, pero el cultivo sufrió de nuevo el estrés de final de ciclo, causado por la falta de agua y las altas temperaturas en esta fase. Los tipos de estrés caracterizados en el ensayo de Ochíchar, se presentaron también en el ensayo de Jerez, salvo que, debido a la poca pérdida de agua por evapotranspiración y temperaturas relativamente más bajas en comparación con los del ensayo de Ochíchar, en este ensayo la sequía de final de ciclo no fue tan acentuada

**Tabla 5.1.** Cuadrados medios del análisis combinado de la varianza para el rendimiento en grano y sus componentes, altura de la planta, días siembra-antesis y antesis-madurez, y la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ) de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochíchar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	Rendimiento en grano ( $\times 10^5$ )	Nº espigas.m <sup>-2</sup> ( $\times 10^3$ )	Nº granos por espiga	Peso de mil granos	Altura de la planta	Días Siembra-Antesis	Días Antesis-Madurez	$\Delta$
Año	2	635,0	53,1	886,2	3095,3	1770,2	8952,2*	1179,2	41,50*
Ambiente	2	2021,1***	625,9***	25095,1***	370,1***	16137,6***	3109,2***	1381,0***	79,30***
Genotipo	9	15,1***	42,3***	313,6***	287,4***	337,8***	57,5***	75,4***	0,26**
Bloque (Y×E)	27	11,5***	9,2***	56,2***	12,6***	56,4***	3,7**	7,4***	0,28***
Y × E	4	188,0***	94,1**	2157,0***	760,7***	1838,3***	651,4***	637,6***	2,06*
Y × G	18	6,6	9,2	68,0*	34,0	55,2	8,8	14,7	0,36
E × G	18	11,0***	13,7***	60,6***	35,9***	101,0***	28,8***	17,4***	0,24***
Y × E × G	36	8,5***	9,3***	25,5	19,4***	46,5***	11,8***	13,0***	0,35***
Error	243	2,3	3,3	21,2	5,2	15,3	1,9	3,0	0,08
Total	359								

Y = Año, E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente.

**Tabla 5.2.** Cuadrados medios del análisis combinado de la varianza para el índice de área foliar en antesis (LAIa), la duración del área foliar (LAD), el peso seco del cultivo en antesis (CDWa), la depresión de la temperatura de la cubierta en antesis (CTDa), el contenido en clorofila en antesis (SPADa), y los parámetros de la fluorescencia de 10 genotipos de trigo duro cultivado en tres ambientes (CIFA, Ochichar y Jerez) durante tres años (1998, 1999 y 2000).

Fuente de variación	gl	LAIa	LAD	CDWa ( $\times 10^4$ )	CTDa	SPADa	Fo ( $\times 10^2$ )	Fm ( $\times 10^4$ )	Fv/Fm ( $\times 10^3$ )
Año	2	49,77	595,7	321,0*	136,97	199,7	2515,0	1219,6	2,44
Ambiente	1	466,46***	4362,1***	5073,4***	346,86***	349,7***	2141,4***	1362,6***	9,00***
Genotipo	9	1,25***	11,9***	13,5***	0,57	46,8***	32,9***	11,4***	0,36**
Bloque (Y×E)	18	0,79***	4,8***	10,0***	1,35***	2,9	15,7***	10,7***	0,30**
Y × E	2	37,58***	557,0***	7,7	21,48***	13,7	1330,5***	917,2***	6,56***
Y × G	18	0,65	5,7	18,3	0,68	8,1	7,7	4,0	0,24
E × G	9	1,28***	10,1***	26,2***	0,76*	5,3*	6,1	2,6	0,23
Y × E × G	18	0,57***	6,1***	14,4***	0,74**	8,1***	6,9	4,8**	0,24*
Error	162	0,20	1,2	3,5	0,34	2,7	6,0	2,3	0,13
Total	239								

Y = Año, E = Ambiente, G = Genotipo, gl = grados de libertad.

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a una probabilidad de 0,05 ; 0,01 y 0,001 respectivamente

### 3.2 *Análisis de la varianza*

El análisis combinado de la varianza para todos los caracteres estudiados (tablas 5.1 y 5.2), reveló la importancia de los factores año y ambiente, que explicaron en valores medios el 26 y 59% de la varianza total, respectivamente. El efecto principal ambiente influyó en particular sobre algunos caracteres, como el rendimiento en grano y sus componentes (con la excepción del peso de mil granos), la altura de la planta, el índice y la duración del área foliar, y el peso seco del cultivo en antesis. La diferencia en cuanto a la disponibilidad de agua de un ambiente a otro pudo ser la razón principal de esta influencia observada. El efecto año también tuvo su mayor influencia sobre algunos caracteres, como el peso de mil granos y el número de días siembra-antesis, que dependieron mucho del grado de estrés de fin de ciclo registrado en cada año. A excepción de la interacción año  $\times$  ambiente, que ejerció un efecto considerable sobre los caracteres estudiados, el efecto del genotipo y de las interacciones genotipo  $\times$  ambiente, aunque fueron altamente significativas en la mayoría de los casos, tuvieron poca influencia sobre la variabilidad observada en nuestros datos.

### 3.3 *Efecto del año y régimen hídrico sobre los distintos parámetros estudiados*

El estudio del efecto del año y régimen hídrico sobre los distintos caracteres se presenta, mediante comparación de medias, en las tablas 5.3 y 5.4.

El año 2000 fue el más productivo, debido a los altos rendimientos registrados sobre todo en el ensayo de regadío en Granada (CIFA), donde se obtuvieron rendimientos superiores a  $5600 \text{ kg ha}^{-1}$ , y en el ensayo de Jerez. El año 1998 fue el menos productivo, con rendimientos que oscilaron entre  $5360 \text{ kg ha}^{-1}$  en el regadío (CIFA) y  $1550 \text{ kg ha}^{-1}$  en el secano (Ochíchar). La alta productividad del año 2000 fue acompañada de altos valores en todos los parámetros de producción (componentes del rendimiento, altura de la planta, induce y duración del área foliar y peso seco del cultivo

**Tabla 5.3.** Comparación entre medias de años y ambientes para el rendimiento en grano y sus componentes, altura de la planta, días siembra-antesis y antesis-madurez, y la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ) de 10 genotipos de trigo duro. Los valores de heredabilidad en sentido amplio se incluyen también.

	Rendimiento en grano (kg ha <sup>-1</sup> )	Nº espigas.m <sup>-2</sup>	Nº granos por espiga	Peso de mil granos (g)	Altura de la planta (cm)	Días Siembra-Antesis	Días Antesis-Madurez	$\Delta$ (‰)
<b>Años</b>								
1998	3543 a†	494 a	28,7 c	43,9 b	76 b	128 c	33 b	16,8 a
1999	3780 b	447 b	35,2 b	39,1 c	72 c	135 b	31 c	16,0 b
2000	4905 c	420 c	40,7 a	49,3 a	80 a	145 a	37 a	
<b>Ambientes</b>								
CIFA	5210 a	533 a	33,0 b	42,5 c	83 a	142 a	35 b	17,0 a
Ochíchar	2660 c	407 b	23,7 c	43,8 b	83 a	133 c	30 c	15,2 b
Jerez	4359 b	384 c	57,3 a	46,0 a	63 b	134 b	36 a	16,9 a
<b>Heredabilidad en sentido amplio</b>								
	0,428	0,779	0,825	0,907	0,814	0,733	0,807	0,057

†: Dentro de las columnas y factores, valores con la misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0,05$  según el test de las mínimas diferencias significativas.

**Tabla 5.4.** Comparación entre medias de años y ambientes para el índice de área foliar en antesis (LAIa), la duración del área foliar (LAD), el peso seco del cultivo en antesis (CDWa), la depresión de la temperatura de la cubierta en antesis (CTDa), el contenido en clorofila en antesis (SPADa), y los parámetros de la fluorescencia de 10 genotipos de trigo duro. Los valores de heredabilidad en sentido amplio se incluyen también.

	LAIa	LAD (semanas)	CDWa (g m <sup>-2</sup> )	CTDa (°C)	SPADa	Fo	Fm	Fv/Fm
<b>Años</b>								
1998	2,19 b†	6,0 b	1048 b	-6,14 b	52,6 b	550 a	2960 a	0,808 a
1999	1,93 c	5,0 c	1388 a	-3,82 a	54,8 a	494 b	2458 b	0,797 b
2000	3,41 a	10,0 a	1403 a	-3,93 a	51,8 c	437 c	2181 c	0,801 b
<b>Ambientes</b>								
CIFA	3,90 a	11,2 a	1740 a	-5,84 b	54,3 a	524 a	2773 a	0,808 a
Ochíchar	1,11 b	2,7 b	819 b	-3,43 a	51,9 b	463 b	2293 b	0,796 b
<b>Heredabilidad en sentido amplio</b>								
	0,422	0,433	0,001	0,225	0,840	0,786	0,643	0,343

†: Dentro de las columnas y factores, valores con la misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0,05$  según el test de las mínimas diferencias significativas.



en antesis). También se observaron unos ciclos vegetativos y reproductivos más prolongados.

Entre ambientes, el regadío favoreció altos rendimientos en grano, acompañados de mayor número de espigas  $\text{m}^{-2}$ , ciclos vegetativos y reproductivos más largos, y alta discriminación del carbono  $^{13}\text{C}$ . Los ensayos en el ambiente de Jerez, aunque bajo condiciones de secano, se comportaron más bien como un ambiente de regadío, debido a que la proximidad del Atlántico determina una importante cantidad de rocío durante la maduración del cultivo, atenuando mucho el efecto de la sequía terminal (Juan-Aracil, comunicación personal) El efecto del estrés hídrico fue más marcado en el ambiente de Ochíchar en Granada, donde se observa que la sequía provocó reducciones importantes en todos los componentes de productividad, llegando a alcanzar el 51% en el rendimiento en grano, 71% en el índice de área foliar y 53% en el peso seco del cultivo en antesis. El efecto del estrés hídrico y térmico se tradujo también en un acortamiento del ciclo de la planta y una mayor temperatura del dosel vegetal en antesis (menor CTDa). Además, se obtuvieron menores valores de  $F_v/F_m$  y de discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$ , confirmando así el estrés sufrido por las plantas en este ambiente.

En cuanto a las heredabilidades en sentido amplio, los componentes de rendimiento presentaron valores muy altos sobre todo el peso de mil granos (0,907). Se observaron también altas heredabilidades para la altura de la planta, los parámetros fenológicos y de fluorescencia ( $F_o$  y  $F_m$ ), así como para el contenido en clorofila en antesis (SPADa).

### **3.4 *Relación del rendimiento con los caracteres morfofisiológicos y fenológicos***

#### **3.4.1 Estudio por correlación**

**Tabla 5.5.** Coeficientes de correlación, dentro de cada ensayo, entre el rendimiento en grano y algunos caracteres estudiados

Años	NES	PMG	ALT	DSA	DAM	Δ	LA <sub>1a</sub>	LAD	CDW <sub>a</sub>	CTD <sub>a</sub>	SPAD <sub>a</sub>	Fv/Fm
CIFA												
1998	0,794**	-0,217	0,233	0,078	-0,200	0,860**	0,884***	0,517	0,720*	-0,747*	0,831**	0,853**
1999	-0,529	0,669*	0,860**	-0,492	0,424	0,705*	0,510	0,674*	0,811**	-0,595	0,320	-0,214
2000	0,761*	-0,311	0,571	0,046	-0,266		0,778**	0,713*	0,920***	-0,830**	0,671*	0,935***
Ochíchar												
1998	0,366	0,008	-0,177	0,344	-0,492	0,035	0,823**	0,369	0,853**	-0,066	0,907***	0,643*
1999	-0,156	0,577	0,633*	0,412	-0,212	0,760*	0,742*	0,581	0,919***	-0,821**	0,498	0,018
2000	0,050	-0,381	0,137	0,331	-0,515		0,913***	0,900***	0,942***	-0,885***	0,002	0,334
Jerez												
1998		-0,263	-0,522	-0,806**	0,405	0,741*						
1999	0,829**	-0,140	0,640*	-0,227	-0,069	0,882**						
2000	0,196	0,634*	-0,804**	0,178	-0,064							

\*, \*\*, \*\*\* : significativo a un nivel de probabilidad de 0,05, 0,01 y 0,001 respectivamente.

En la tabla 5.5 se presentan los coeficientes de correlación dentro de cada ensayo, entre el rendimiento en grano y algunos caracteres estudiados. Se observa que el peso seco del cultivo (CDWa) y el índice de área foliar (LAIa) en antesis (caracteres que tienen una relación de causa efecto con el rendimiento), estuvieron positiva y altamente correlacionados con este último, demostrando el interés que tiene la biomasa vegetal en antesis tanto en superficie (capacidad fotosintética) como en peso (capacidad de acumulación de reservas), para la obtención de una elevada producción de grano. El número de espigas  $m^{-2}$ , así como el peso de mil granos, por el contrario no presentaron una relación clara con el rendimiento, sobre todo bajo condiciones de sequía (Ochíchar). En el regadío (CIFA), el rendimiento estuvo determinado por el número de espigas por superficie durante los años 1998 y 2000. Los caracteres fenológicos tuvieron una relación débil y no significativa con el rendimiento, demostrando ser incapaces de determinar las variaciones observadas en el rendimiento dentro del conjunto de los genotipos estudiados. Otros caracteres fisiológicos y de tipo integrativo tuvieron una estrecha relación con el rendimiento.

La discriminación isotópica del carbono  $^{13}C$  estuvo alta y positivamente correlacionada con el rendimiento, sobre todo bajo condiciones no limitantes (ensayos de CIFA y Jerez) (tabla 5.5 y figura 5.4). La depresión de la temperatura de la cubierta en antesis (CTDa) se relacionó inversamente con el rendimiento (tabla 5.5 y figura 5.5). Esto significa que los genotipos de altos rendimiento fueron aquellos que mantuvieron una temperatura más baja a la del aire en antesis. El contenido en clorofilas medido por SPAD, y la relación Fv/Fm en antesis, estuvieron también positivamente relacionados con el rendimiento en la mayoría de los ensayos.

### 3.4.2 Análisis por coeficientes de sendero

Los resultados del análisis por coeficientes de sendero para los tres ambientes por separado se presenta en los diagramas de la figura 5.5. El sistema causa-efecto utilizado en los tres diagramas, se basó sobre la ontogenia de la planta de trigo. El número de espigas  $m^{-2}$  y la duración del periodo vegetativo se consideran mutuamente



relacionados, por el hecho de que ambos caracteres pueden ejercer una influencia recíproca durante la primera fase del desarrollo del trigo. La duración del periodo vegetativo modifica al número de granos por espiga y a la duración del llenado del grano. La proliferación de los tallos es el primer proceso de desarrollo en los cereales, por lo que el número de espigas  $m^{-2}$  puede ejercer una influencia directa sobre todos los demás caracteres.

Los efectos directos obtenidos en el análisis de senderos (figura 5.5) indican que, para el conjunto de genotipos, el número de espigas  $m^{-2}$  ha determinado las variaciones en el rendimiento sólo en el regadío del CIFA. Los demás componentes tuvieron un efecto más débil sobre el rendimiento. Se observan también una serie de efectos directos negativos del número de espigas  $m^{-2}$  y del número de granos por espiga sobre el peso de mil granos. En los ambientes de Jerez y Ochíchar, se observaron efectos no significativos en la mayoría de los casos. Resalta solamente el efecto negativo del número de granos por espiga sobre el peso de mil granos, tanto en Jerez como en Ochíchar. En los ambientes de Granada (CIFA y Ochíchar), se observó un efecto directo negativo entre el periodo vegetativo y la duración del llenado del grano.

#### 4. DISCUSIÓN

La caracterización climática de los ensayos en los tres años puso de manifiesto los tipos de sequía más frecuentes en la zona de estudio. Así, los secanos de la provincia de Granada sufren en general de una relativa sequía de principio de ciclo, acompañada a veces por daños de heladas (particularmente el año 1999), como también de un estrés hídrico y térmico al final de ciclo. Los secanos de Jerez, debido a la deposición de rocío bajo la influencia atlántica, presentan una sequía terminal no tan fuerte, de tal modo que se comportan como los regadíos de Granada.

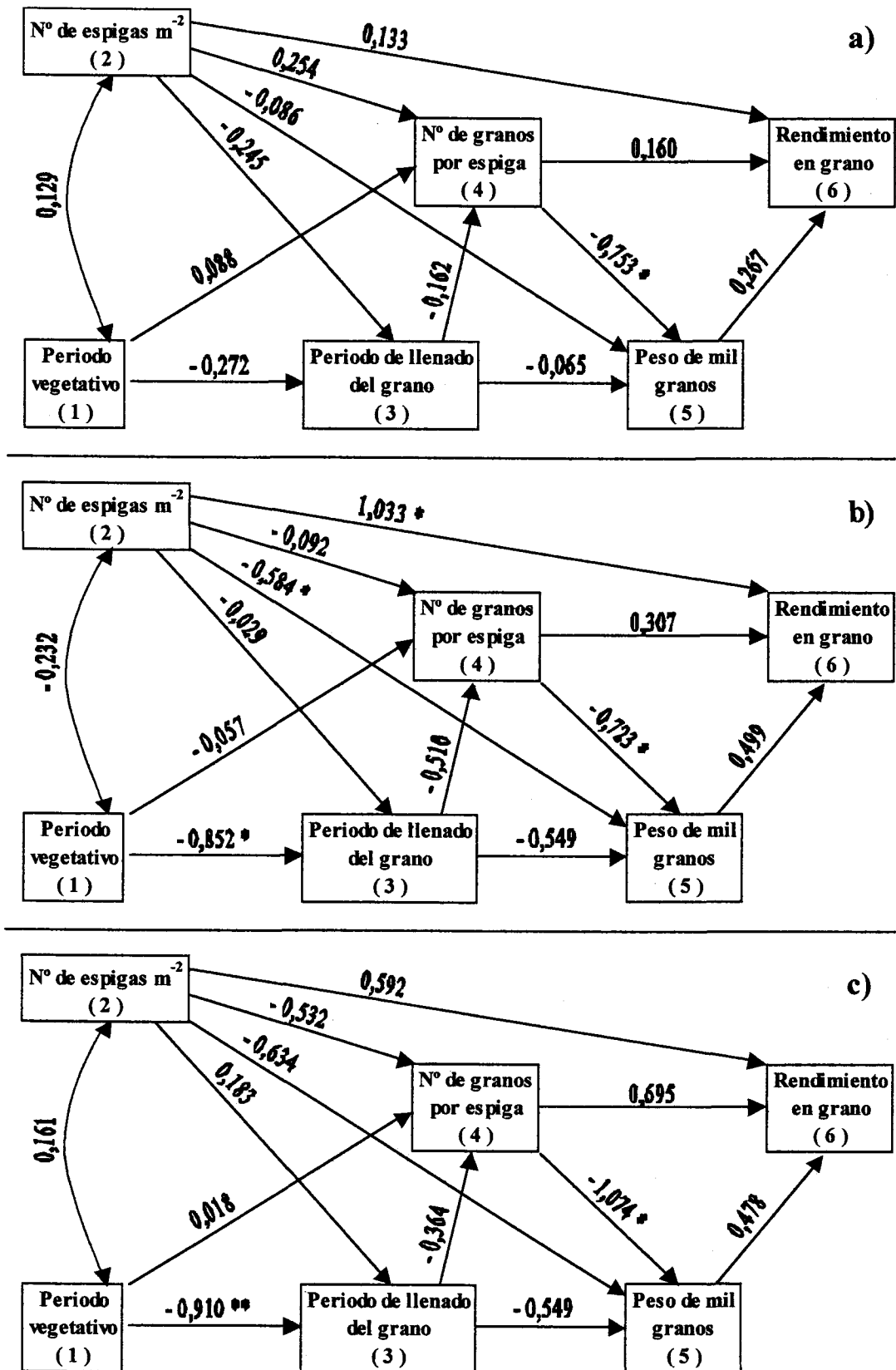


Figura 5.5. Diagrama de coeficientes de sendero de la relación entre los 6 caracteres de trigo duro cultivado en Jerez (a), CIFA (b) y Ochíchar (c) durante 3 años (1998, 1999 y 2000). La flecha de doble sentido indica el coeficiente de correlación; las flechas de un solo sentido indican los coeficientes de sendero. \*, \*\* significativo a P = 0,05 y 0,01, respectivamente.

La fluctuación interanual de las precipitaciones observada en nuestro estudio, acompañada a menudo de estrés hídrico y térmico terminales, es una característica general del clima mediterráneo. Esto afectó mucho a los rendimientos obtenidos a lo largo de los tres años de este experimento, confirmando lo comentado por muchos autores sobre la impredecibilidad del rendimiento en la zona mediterránea (Loss y Siddique, 1994; Ceccarelli y Grando, 1996).

El régimen hídrico experimentado en cada uno de los ambientes ejerció un gran efecto sobre el rendimiento y los demás caracteres de productividad, así como sobre los caracteres morfofisiológicos estudiados. El efecto del año tuvo una menor influencia en comparación con la del régimen hídrico, salvo en casos como el peso de mil granos y los días siembra-antesis.

Bajo las condiciones de nuestro estudio, el rendimiento en grano no estuvo muy relacionado con sus componentes, salvo con el número de espigas  $m^{-2}$  en las condiciones favorables del regadío en Granada. Estos resultados contradicen lo normalmente encontrado cuando se comparan genotipos de cereales bajo condiciones de secano en el sur de España, donde la cosecha grano de los cereales varía en función del número de espigas por unidad de superficie, tanto cuando se estudian efectos de tratamientos con fertilizantes o fechas de siembra (García del Moral y Ramos, 1989; Marinetto, 1992; Ramos *et al.*, 1993), como cuando se comparan genotipos (García del Moral *et al.*, 1991; Yañez, 1995). La importancia relativa de los diferentes componentes del rendimiento en la determinación del rendimiento del trigo es muy variable en función del genotipo, ambiente, fertilización, condiciones de humedad y año, encontrándose en la bibliografía numerosa información, a veces contradictoria. En nuestro caso, la variabilidad climática interanual, los tipos de estrés registrados en cada ambiente y, muy probablemente, la gran variación genética existente entre los genotipos estudiados, enmascararon dichas relaciones de los componentes con el rendimiento.

Los índices de crecimiento estudiados (LAIa, LAD y CDWa), han aparecido estrechamente relacionados con el rendimiento en grano. Esto confirma numerosos estudios en la zona, donde se ha comprobado la utilidad de estos índices como

indicadores del rendimiento final en cebada (Ramos *et al.*, 1985; 1989; García del Moral *et al.*, 1985; García del Moral *et al.*, 2001) y con lo señalado por diversos autores para el crecimiento de los cereales en las condiciones del centro y norte de Europa (Watson *et al.*, 1963; Lawlor *et al.*, 1981; Gallagher y Biscoe, 1978a; Russell y Ellis, 1988). La producción de biomasa en los cereales depende de muchas características de la planta y, en especial, de la cantidad de tejido fotosintético, de su longevidad y de la tasa de fotosíntesis por unidad de área foliar (Biscoe y Gallagher, 1977; Hanson *et al.*, 1985). Gallagher y Biscoe (1978ba) señalan que el nivel de crecimiento de los cereales es proporcional a la cantidad de radiación fotosintéticamente activa recibida por el cultivo, la cual depende principalmente del índice de área foliar desplegado por el cultivo y de todos aquellos factores que afectan al crecimiento de las hojas, en especial la temperatura (Gallagher, 1979). Los factores que regulan el crecimiento y la producción de área foliar bajo las condiciones ambientales del sur de España, son luz, temperatura y humedad, habiéndose descrito un modelo de regresión múltiple que relaciona estos factores, en cebada, con los niveles de crecimiento del cultivo, producción de biomasa, índice de área foliar y tasa de asimilación neta (Ramos *et al.*, 1985). En el conjunto de ensayos se confirma la conclusión general ya enunciada por anteriores estudios (García del Moral *et al.*, 1985; Ramos *et al.*, 1985; 1989, Shepherd *et al.*, 1987; Craufurd *et al.*, 1987; Acevedo *et al.*, 1991) de que la producción de grano en los cereales en el área mediterránea resulta estimulada por unos niveles elevados de biomasa en antesis, los cuales posibilitan la acumulación de carbohidratos en los órganos vegetativos, que serán translocados posteriormente a los granos en crecimiento durante el período de maduración (Pheloung y Siddique, 1991), contribuyendo así a la obtención de mayores cosechas. Se concluye, entonces, que los genotipos a utilizar en ambiente mediterráneo deberían poseer una alta capacidad de producción de biomasa y de índice de área foliar desde el comienzo de su desarrollo, para llegar a la antesis con elevados valores de ambas características. Además, resulta altamente deseable que el área foliar se mantenga verde durante el mayor tiempo posible desde la antesis, para permitir elevados valores de LAI en madurez y de LAD y posibilitar un mejor llenado de los granos.

La cantidad de clorofila medida en la hoja bandera ha resultado ser un parámetro muy claro para discriminar tanto entre genotipos como entre ambientes, y su correlación



estadística con el rendimiento por Ha fue en la mayoría de los ensayos de magnitud elevada. Dado que bajo condiciones normales, la mayor parte de los carbohidratos del grano proceden de la actividad fotosintética de la hoja bandera (Thorne, 1974), se ha propuesto que el contenido de clorofilas de esta hoja podría ser un buen criterio de selección de genotipos de alto rendimiento bajo condiciones de estrés (Araus *et al.*, 1997b), ya que, a su vez, el contenido de clorofila determina diversos parámetros relacionados directamente con el rendimiento fotosintético, tales como la estructura foliar y la discriminación isotópica del C (Araus *et al.*, 1997b), la tasa de fotosíntesis (Ma *et al.*, 1995) o la absorción de radiación fotosintéticamente activa (Earl y Tollenaar, 1997).

En nuestro estudio, el mayor contenido de clorofilas en el regadío ha sido debido muy probablemente a la mayor fertilidad del suelo, y en especial del contenido residual de N, que es muy elevado en los suelos de la Vega de Granada (Pozo *et al.*, 1992). Sin embargo, este mayor contenido de clorofilas en la hoja bandera no se ha reflejado en un superior peso de mil granos en el regadío, ya que las diferencias en este parámetro entre los dos ambientes, aunque significativas, no han sido de gran magnitud.

La estrecha relación encontrada en nuestro estudio entre el contenido de clorofilas en antesis y el rendimiento, junto con su elevada heredabilidad, sugieren que este parámetro de fácil determinación podría ser un buen criterio de selección para incrementar el rendimiento bajo condiciones mediterráneas.

Los parámetros de fluorescencia han presentado diferencias significativas para los genotipos, ambientes y años. De esta forma, el regadío, el ambiente con mayor contenido de clorofilas y de mayor producción por Ha y por planta, ha presentado los mayores valores de fluorescencia basal ( $F_o$ ) y máxima ( $F_m$ ), de fluorescencia variable ( $F_v$ ) y de relación  $F_v/F_m$ .

La fluorescencia de la clorofila ha sido propuesta como un criterio fácil de selección para resistencia a sequía en cebada (Nogues *et al.*, 1994) y trigo duro (Ali-Dib *et al.*, 1994; Flagella *et al.*, 1995; Araus *et al.*, 1998a), ya que se ha demostrado que, por

un lado, existe la suficiente variabilidad genética en estos parámetros como para ser utilizada en programas de hibridación; y, por otro, que existe una relación muy estrecha entre capacidad de resistencia al estrés hídrico y emisión de fluorescencia (Havaux *et al.*, 1988; Sarrafi *et al.*, 1993; Araus *et al.*, 1998a). En efecto, condiciones de elevada irradiación y déficit hídrico, que causan cierre estomático y limitan la captación de CO<sub>2</sub>, pueden provocar la fotoinhibición del FOTOSISTEMA II (FSII) por una excesiva densidad de flujo electrónico, limitando el transporte de e<sup>-</sup> y el rendimiento fotosintético. En esta situación, una disminución en la relación Fv/Fm por debajo de los valores considerados normales en plantas no sometidas a estrés (típicamente alrededor de  $0,832 \pm 0,004$  para la mayoría de las plantas, Björkman y Demmig, 1987), es un buen indicador del estado de fotoinhibición del FSII. No obstante, al examinar la variación en Fv/Fm es importante distinguir entre disminuciones causadas por aumento de Fo o por disminución en Fv (Araus *et al.*, 1998a). De esta forma, un aumento en Fo (la emisión de fluorescencia cuando los centros de reacción están abiertos, es decir cuando puede aceptarse la energía luminosa para la separación de cargas, y la atenuación fotoquímica -quenching- es mínima) indica destrucción de los centros de reacción del FSII, o desacoplamiento de la transferencia de energía desde el complejo antena a los centros de reacción. Por el contrario, la disminución en Fv causada por una menor Fm puede indicar un incremento en la atenuación no fotoquímica de la fluorescencia, constituyendo en este caso un mecanismo fotoprotector, al permitir la disipación del exceso de excitación bajo condiciones de elevada irradiancia (Bolhar-Nordekamp *et al.*, 1989; Demmig-Adams *et al.*, 1996; Araus *et al.*, 1998a).

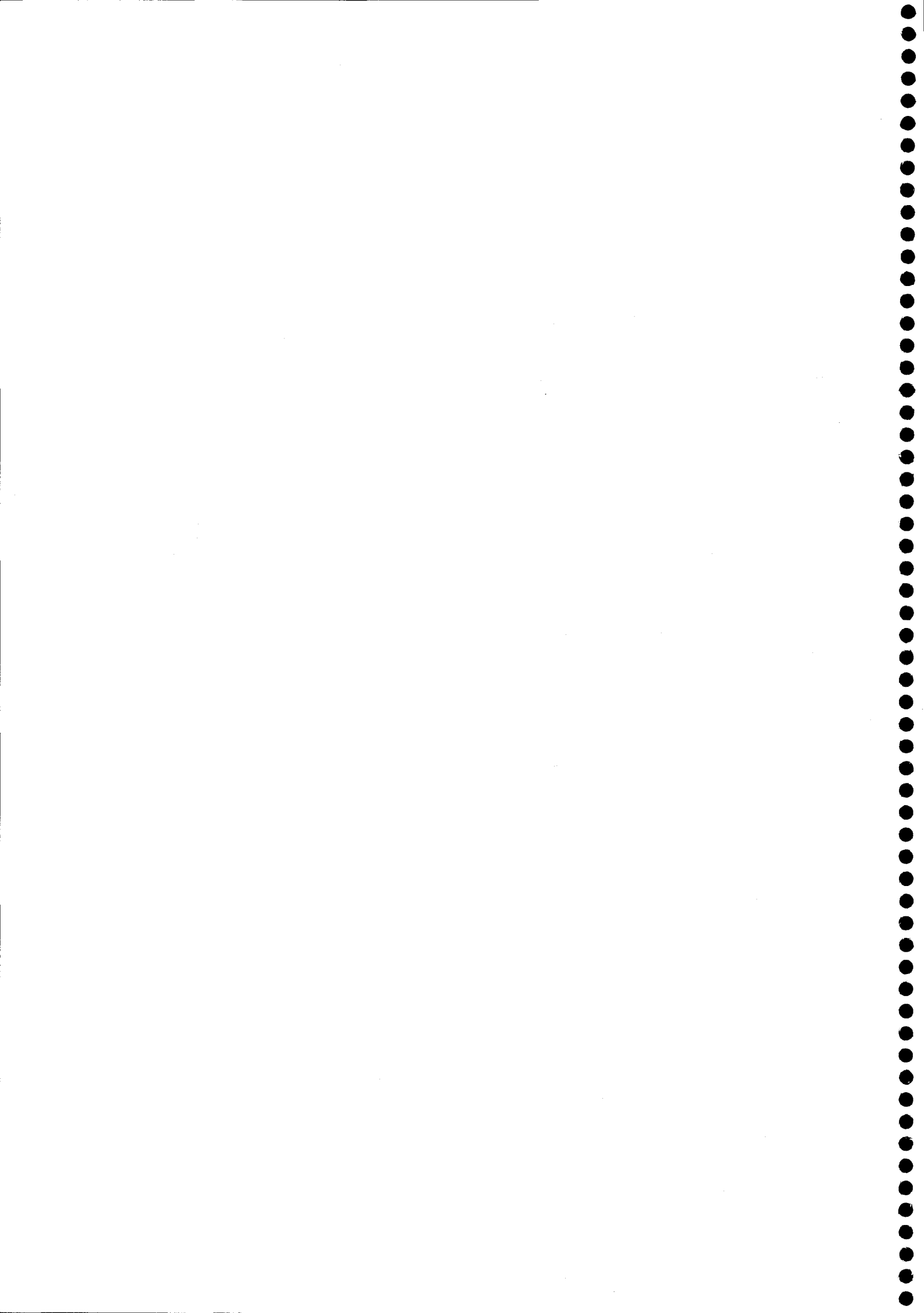
La estrecha relación significativa encontrada entre la producción de grano y la relación Fv/Fm indica que, en nuestros ensayos, aquellos genotipos capaces de limitar en mayor medida la fotoinhibición del FSII han sido más productivos. No obstante, la utilidad de la correlación Fv/Fm y la producción de grano como indicador del grado de resistencia a sequía en trigo duro es una cuestión controvertida. Así, mientras algunos investigadores (Havaux *et al.*, 1988; Flagella *et al.*, 1995) señalan su utilidad para discriminar entre genotipos bajo condiciones de sequía, Di Marco *et al.*, (1988) y Araus *et al.*, (1998a) no encuentran una elevada correlación estadística entre Fv/Fm y el rendimiento bajo condiciones mediterráneas, proponiendo que otros parámetros tales

como Fo o Fm pueden ser mejores indicadores del grado de resistencia a sequía. De hecho la alta heredabilidad encontrada en nuestro estudio para Fo y Fm apoya las propuestas de estos autores, ya que es posible seleccionar para estos parámetros en las primeras generaciones.

La depresión de la temperatura de la cubierta vegetal en anthesis (CTDa) estuvo negativamente relacionada con el rendimiento tanto en regadío como en secano. Nuestros resultados afirman lo que muchos autores han indicado sobre la utilidad de la CTD como herramienta para evaluar las diferencias en el rendimiento (Blum 1988; Blum *et al.*, 1989; Reynolds *et al.*, 1994, 1997, 1999). La temperatura de la cubierta vegetal está relacionada con la magnitud de la transpiración, siendo dependiente de una serie de mecanismos que incluyen la absorción radical de agua, el control estomático de la transpiración, la fenología, el contenido en pigmentos, la anatomía foliar y los mecanismos de disipación de energía bajo alta irradiación (Gusta y Chen, 1987; Blum, 1988; Blum *et al.*, 1989; Pinter *et al.*, 1990; Romagosa y Araus, 1991a). Incluso en ausencia de estrés hídrico, la temperatura del dosel foliar está estrechamente asociada con el rendimiento (Reynolds *et al.*, 1994), como ocurre en las variedades recientemente introducidas por el CIMMYT (Fischer *et al.*, 1998) o el CSIRO australiano (Condon y Hall, 1997). Estudios preliminares bajo condiciones no limitantes, indican que existe una ganancia genética significativa en el rendimiento en respuesta a la selección por temperatura del dosel en generaciones tempranas (Reynolds *et al.*, 1998). En algunos trabajos realizados por CIMMYT, se comparó la CTD con otros criterios de selección tales como la tasa fotosintética (Reynolds *et al.*, 1994) y el rendimiento y sus componentes como el número de granos y la biomasa (Reynolds *et al.*, 1998). Ninguno de estos caracteres demostró estar más asociado al rendimiento que CTD. La utilidad de este criterio queda cuestionada en nuestro estudio por la baja heredabilidad encontrada bajo las condiciones del sur de España. Esta baja heredabilidad se encontró también en un estudio en el norte de España (Villegas, 2000), por lo que resulta ser un argumento en contra de la eficiencia en la utilización de este criterio en los programas de selección bajo condiciones mediterráneas.

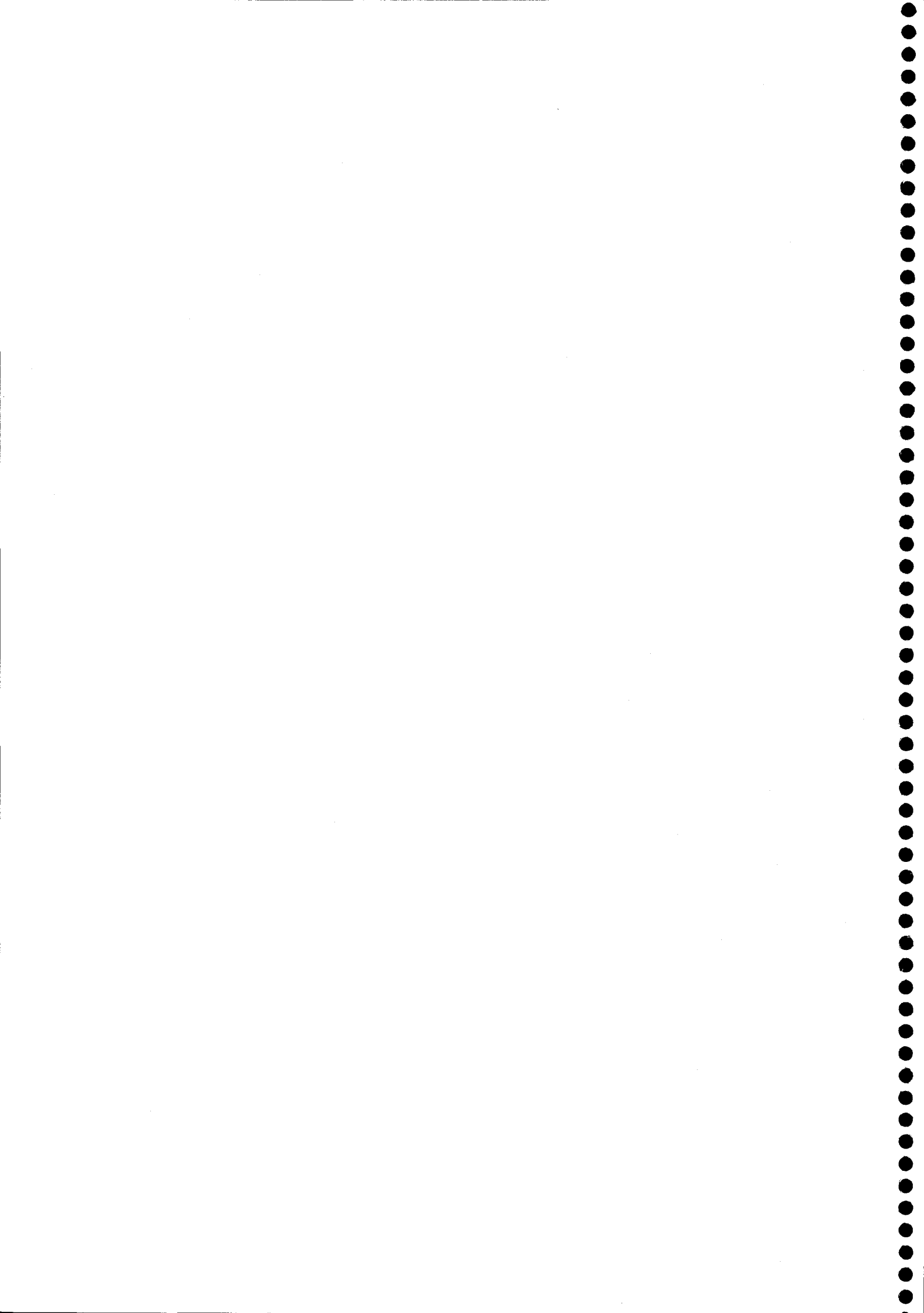
En nuestro estudio ha aparecido variabilidad tanto genotípica como ambiental para los valores de discriminación isotópica del  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ). Resultados similares han sido encontrados en trigo (Condon *et al.*, 1987; Morgan *et al.*, 1993; Araus *et al.*, 1997b) y cebada (Hubick y Farquhar, 1989; Romagosa y Araus, 1991b). De acuerdo con la teoría que predice que en plantas  $\text{C}_3$ ,  $\Delta$  está positivamente relacionada con la presión parcial de  $\text{CO}_2$  en los espacios intercelulares y negativamente relacionada con la eficiencia en el uso del agua (Farquhar y Richards, 1984; Condon *et al.*, 1990; Morgan *et al.*, 1993), la variabilidad intergenotípica en  $\Delta$  puede venir causada por diferencias tanto en la conductancia estomática como en la capacidad fotosintética. En trigo, la evidencia experimental (Condon *et al.*, 1990; Morgan *et al.*, 1993), indica que ambos factores, conductancia estomática y diferencias en la capacidad fotosintética, contribuyen aproximadamente en la misma extensión a la variabilidad encontrada en  $\Delta$ . De acuerdo con Araus *et al.* (1997b), la modificación de  $\Delta$  a través del aumento en la capacidad fotosintética, en lugar de la disminución en la conductancia estomática, sería una estrategia más favorable para incrementar el rendimiento del trigo, al no afectar a la temperatura de la cubierta ni, por tanto, a la relación entre  $\Delta$  y eficiencia de la transpiración. Los valores de  $\Delta$  encontrados en este estudio en secano y regadío se encuentran dentro del rango señalado para el trigo duro en el área mediterránea (Araus *et al.*, 1997b; Royo *et al.*, 2001). Igualmente, los menores valores de  $\Delta$  encontrados en el secano son consistentes con un mayor control estomático de la transpiración durante el llenado del grano en este ambiente (y con una menor conductancia estomática, por tanto), de acuerdo con lo esperado. La correlación entre  $\Delta$  y el rendimiento en grano ha sido significativa solo bajo las condiciones favorables de regadío (CIFA) y relativamente elevada, aunque no significativa en Jerez. Este resultado puede deberse a que bajo condiciones de estrés hídrico prolongado (el caso del ambiente de Ochíchar), el rango de variación, tanto en los valores de  $\Delta$  como de rendimiento de grano, ha sido mucho menor que bajo condiciones más favorables, lo que ha tendido a reducir el nivel de correlación entre ambos. De hecho, la relación de  $\Delta$  con la producción de grano encontrada en la bibliografía presenta algunas contradicciones. Así, mientras en condiciones no limitantes la correlación entre ambas parece ser positiva (Condon *et al.*, 1987; Romagosa y Araus, 1991b; Morgan *et al.*, 1993), bajo condiciones de estrés hídrico puede ser positiva (Ehdaie *et al.*, 1991), negativa (Hubick y Farquhar, 1989;

Richards, 1991) o no significativa (Morgan *et al.*, 1993). Estos resultados pueden ser consecuencia tanto de la relación negativa encontrada entre  $\Delta$  y la fecha de espigado (Ehdaie *et al.*, 1991), como del hecho de que, bajo condiciones de sequía, un alto porcentaje de los carbohidratos del grano procede de las reservas acumuladas en el período de pre-antesis (Austin *et al.* 1980b; Ramos *et al.*, 1985; Shepherd *et al.*, 1987), es decir, asimiladas bajo condiciones menos limitantes y que al ser translocadas al grano en proporción variable en cada genotipo pueden desviar su composición isotópica, alterando así su correlación con el rendimiento. Recientemente, se ha comentado que, bajo las condiciones mediterráneas, la relación de  $\Delta$  con el rendimiento en grano de la cebada tiende a aumentar conforme mejoran las condiciones del cultivo (Voltas *et al.*, 1999). A pesar de la relación positiva encontrada entre  $\Delta$  el rendimiento en grano en los ensayos del CIFA y Jerez, la heredabilidad de este carácter ha resultado ser muy baja en las condiciones de nuestro estudio. Esto contradice lo que se encuentra en la bibliografía sobre el control genético de  $\Delta$  en trigo harinero y su heredabilidad, que varía entre 0,60 y 0,98 (Condon y Richards, 1993). La baja heredabilidad encontrada en nuestro caso se debe probablemente al menor número de años utilizados (sólo 1998 y 1999).





# **DISCUSIÓN GENERAL**





## Relación del contenido en proteína con el rendimiento en grano

Tal y como se comentó en el primer capítulo, la importancia del contenido en proteína como parámetro esencial en la calidad del trigo duro está adquiriendo cada vez más relevancia en los programas de mejora. Ello se debe, en gran medida, a la demanda creciente en el mercado de variedades de cereales con buena calidad. De aquí, el interés de caracterizar la relación entre el contenido en proteína y el rendimiento en grano, que por ser generalmente de naturaleza negativa, complica la mejora simultánea para estos dos caracteres, aunque existen posibilidades para la creación de variedades de trigo duro con altos rendimientos y buenos contenidos en proteína.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio revelaron, tal como se esperaba, la gran importancia del factor ambiental (especialmente el régimen hídrico) en la determinación de las diferencias observadas en el rendimiento en grano y el contenido en proteína. La influencia del factor genotípico y de su interacción con el ambiente no fue de gran magnitud. Las características del clima mediterráneo (fluctuación de las precipitaciones de un año a otro y la sequía y altas temperaturas durante la fase final de ciclo), influyen mayoritariamente en la variación interanual observada tanto a nivel del rendimiento en grano como en el contenido en proteína.

Confirmando lo obtenido frecuentemente en los estudios de la relación del contenido en proteína con el rendimiento en grano (Peterson *et al.*, 1992; Simmonds, 1995; Novaro *et al.*, 1997; Pleijel *et al.*, 1999), hemos encontrado una relación inversa entre estos dos parámetros, debida probablemente al efecto de dilución de los compuestos nitrogenados cuando aumenta la deposición de carbohidratos bajo condiciones favorables a la fotosíntesis (Jenner *et al.*, 1991). Sin embargo, en nuestro estudio, la regresión resultó ser no lineal, y se ajustándose mejor a una ecuación asintótica, en lugar de a la conocida regresión lineal. Ello indica que aumentos en el rendimiento en grano por encima de un cierto nivel bajo condiciones favorables no disminuyen el contenido en proteína, lo que nos permite concluir que es posible mejorar los dos caracteres de forma simultánea. De hecho, varios autores afirmaron dicha posibilidad en los cereales (Lofler y Busch, 1982; Stodart y Marshal, 1990; Ali, 1995).

También se encontró, en nuestro estudio, una relación negativa entre el contenido en proteína y el índice de cosecha. Resultados similares se obtuvieron en trigo blando (Beninati y Busch, 1992) y tritordeo (Ballesteros, 1993), lo que demuestra que, en los cereales, la reducción en la cantidad de paja relativa a la cantidad de grano provoca una reducción en el porcentaje de proteína del grano.

El estudio de la heredabilidad de los caracteres considerados resaltó la gran diferencia en considerar los ambientes por separado o agruparlos en un solo conjunto. De ello se concluye que, dentro de los ambientes, Jerez fue el único capaz de ofrecer una heredabilidad media para los tres caracteres. Sin embargo, se obtuvieron valores medios a altos de heredabilidad cuando se consideraron los tres ambientes a la vez, lo que demuestra la posibilidad de selección para estos caracteres en un programa de mejora para la zona de Andalucía oriental.

En cuanto a la influencia de las variables climáticas sobre la acumulación de la proteína en el grano, se observó que las precipitaciones y las temperaturas mínimas cerca de la antesis fueron las más determinantes. Las lluvias previas al comienzo del crecimiento del grano, tal y como ocurre en nuestro estudio, causaron una dilución de las reservas de nitrógeno, debido a una proliferación de la biomasa vegetativa y al aumento del número de granos por unidad de superficie.

### **Estudio de los parámetros de calidad**

La calidad del trigo duro está adquiriendo cada vez más importancia en los programas de mejora, dado el interés que tiene tanto a nivel del agricultor, como para los molineros y los fabricantes de pasta, incluyendo a los consumidores, que se sitúan en el final de esta cadena. La fuerte interacción genotipo  $\times$  ambiente influye negativamente sobre los parámetros de calidad causando, fluctuaciones en la calidad del trigo duro y, por tanto, en su precio en el mercado.

Los resultados obtenidos en este estudio resaltaron la gran influencia ambiental sobre todos los parámetros estudiados, así como la importancia de la interacción

genotipo  $\times$  ambiente, manifestada también en trabajos similares (Michelena *et al.*, 1995; Ames *et al.*, 1999). El control genético fue determinante para el contenido en pigmentos, el test de sedimentación SDS, la vitrosidad y el peso específico. Estos parámetros presentaron además unos elevados valores de heredabilidad ( $H^2$ ), por lo que aparecen como fundamentales en la selección de variedades de calidad para esta zona.

Los ambientes de secano permitieron la obtención de buenos valores para la mayoría de los parámetros de calidad, confirmando así lo indicado por Borghi *et al.* (1997) de que las condiciones del clima mediterráneo ofrecen la oportunidad para la obtención de trigos con buena calidad. Jerez resulta ser un ambiente muy idóneo para la creación de variedades con alta calidad, ya que parece estimular una mejor expresión del potencial genético y favorece la manifestación de todos los parámetros de calidad en condiciones óptimas.

Los genotipos estudiados mostraron buenos niveles de calidad para todos los parámetros. La excepción ha sido el color amarillo de la sémola, que parece haber sido influido negativamente por las condiciones agronómicas de nuestros ensayos. Altar-aos fue el único genotipo que presentó una pigmentación amarilla dentro de los niveles aceptables en España.

En cuanto a la relación entre los parámetros de calidad, se destaca la relación positiva del peso específico con el contenido en proteína, y del contenido en pigmentos con la vitrosidad, lo que demuestra la posibilidad de una selección paralela de estos parámetros. Sin embargo, y bajo las condiciones de nuestro estudio, se manifestó una relación inversa entre el contenido en proteína y el volumen de sedimentación SDS. Ello indica que la selección para la cantidad de proteína en el grano se realiza a expensas de su calidad.

### **Análisis del crecimiento del grano**

La fase del llenado del grano es un de las más críticas del ciclo del cultivo, por el hecho de que condiciona el rendimiento en grano de los cereales. Por eso, el

conocimiento profundo de los procesos que intervienen en el crecimiento del grano es de gran utilidad en la mejora del trigo duro.

En este estudio, se confirmó la eficiencia de la ecuación logística propuesta por Darroch y Baker (1990) en el ajuste de las curvas del llenado del grano, que mostró coeficientes de determinación ( $R^2$ ) superiores al 95%. El régimen hídrico influyó mucho sobre los parámetros del llenado en dos de los tres años estudiados. Así, la sequía provocó la reducción del peso final del grano y de la duración del llenado, mientras que aumentó la tasa de acumulación de los carbohidratos en el grano.

Confirmados por el análisis de varianza y por el análisis de componentes principales, el peso final del grano y la tasa máxima del llenado del grano presentaron mayor dependencia genética que ambiental, resultado también encontrado en trabajos similares (Gebeyehou *et al.*, 1982; Bruckner y Frohberg, 1987; Darroch y Baker, 1990). La duración del llenado del grano presentó una fuerte influencia ambiental, sobre todo de la temperatura durante la última fase.

Los coeficientes de sendero utilizados en este estudio aportaron información adicional sobre las relaciones de los parámetros del llenado del grano entre sí y con el rendimiento en grano y el contenido en proteína. Las variaciones en el peso final del grano vinieron determinadas principalmente por la duración y la tasa del llenado del grano. Así, en los ambientes que reducen la tasa del llenado del grano, la duración del mismo determina mayoritariamente el peso del grano. En los ambientes que acortan la duración del llenado, la velocidad de translocación de asimilados hacia el grano parece determinante de su peso final. La duración del periodo vegetativo ejerció un efecto negativo sobre la duración del llenado del grano. Esto parece ser un carácter común en los cereales bajo condiciones mediterráneas (Motzo *et al.*, 1996; Sayed y Gadallah, 1983; García del Moral *et al.*, 1991).

#### **Estudio de la adaptación y de la interacción G × E**

La mayoría de los caracteres de interés agronómico y que determinan la calidad son de herencia cuantitativa, estando por lo tanto muy influidos por el ambiente y presentando una elevada interacción genotipo  $\times$  ambiente. Esta última ha sido el punto de mira de muchos mejoradores e investigadores, ya que al caracterizarla se puede obtener una idea acerca del grado de estabilidad o adaptación del material genético a distintos ambientes.

En nuestro trabajo, se han utilizado varias técnicas para el estudio de la adaptación y la estabilidad del rendimiento en grano y de la calidad. Los resultados obtenidos revelaron una moderada capacidad del análisis de la regresión conjunta para interpretar la interacción  $G \times E$  y explicó menos del 31% de la suma de cuadrados de dicha interacción, confirmando así conclusiones similares enunciadas por otros autores (Zobel *et al.*, 1988; Nachit *et al.*, 1992; Annicchiarico, 1997). Por el contrario, el análisis multivariante AMMI explicó gran parte de la interacción, que se acumuló mayoritariamente en el primer eje de componentes principales (cerca de la mitad de la suma de cuadrados de la interacción). La fuerte interacción año  $\times$  ambiente encontrada en nuestro estudio, dificultó definir patrones de adaptación  $G \times E$  desde el punto de vista agronómico y ambiental.

Los otros parámetros de estabilidad utilizados en este apartado ayudaron a determinar aquellos genotipos que presentan una estabilidad general o específica a los ambientes de la zona de estudio, y dieron resultados relativamente similares. Se concluyó que la variedad comercial española Altar-aos fue la mejor dentro del conjunto de genotipos estudiados y reunió buenas propiedades, tanto de rendimiento como de calidad, presentando además una elevada estabilidad para ambos caracteres. De la colección de ICARDA, Waha demostró adaptarse bastante bien a las condiciones de nuestra zona, resultando ser de igual utilidad que Altar-aos.

**Identificación de criterios morfofisiológicos de selección para la resistencia a la sequía en el ambiente mediterráneo**

La aproximación analítica ha sido propuesta recientemente como método alternativo a la mejora empírica, definida como la selección basada en el rendimiento. Esta nueva aproximación consiste en la evaluación e identificación de caracteres de tipo morfológico, fenológico o fisiológico, capaces de incrementar el rendimiento en condiciones de estrés abiótico terminal, como las que ocurren en la cuenca mediterránea.

La caracterización climática de los ambientes estudiados reveló los tipos de estreses experimentados en cada uno de ellos. Así, el secano de Granada se caracteriza por una sequía de principio de ciclo, acompañada a veces por daños de helada y un estrés hídrico y térmico de fin de ciclo. El secano de Jerez, debido a la deposición de rocío bajo la influencia atlántica, presenta una sequía terminal no tan fuerte, de tal modo que se comportan como los regadíos de Granada.

El régimen hídrico experimentado en cada uno de los ambientes ejerció un gran efecto sobre el rendimiento y los demás caracteres de productividad, así como sobre los caracteres morfofisiológicos estudiados. Bajo las condiciones de nuestro estudio, el rendimiento en grano no estuvo muy relacionado con sus componentes, salvo con el número de espigas m<sup>2</sup> en las condiciones favorables del regadío en Granada. La variabilidad climática interanual, los tipos de estrés registrados en cada ambiente y, muy probablemente, la gran variación genética existente entre los genotipos estudiados, enmascararon dichas relaciones de los componentes con el rendimiento.

Los índices de crecimiento estudiados (LAIa, LAD y CDWa), han aparecido estrechamente relacionados con el rendimiento en grano. Esto confirma numerosos estudios en la zona, donde se ha comprobado la utilidad de estos índices como indicadores del rendimiento final en cebada (Ramos *et al.*, 1985; 1989; García del Moral *et al.*, 1985; García del Moral *et al.*, 2001) y con lo señalado por diversos autores para el crecimiento de los cereales en las condiciones del centro y norte de Europa (Watson *et al.*, 1963; Lawlor *et al.*, 1981; Gallagher y Biscoe, 1978; Russell y Ellis, 1988).

La cantidad de clorofila medida en la hoja bandera ha resultado ser un parámetro muy claro para discriminar tanto entre genotipos como entre ambientes, y su correlación estadística con el rendimiento por Ha fue en la mayoría de los ensayos de magnitud elevada. La estrecha relación encontrada en nuestro estudio entre el contenido de clorofilas en antesis y el rendimiento, junto con su elevada heredabilidad, sugieren que este parámetro de fácil determinación podría ser un buen criterio de selección para incrementar el rendimiento bajo condiciones mediterráneas.

Se encontró una estrecha relación significativa entre la producción de grano y la relación Fv/Fm indicando que, en nuestros ensayos, aquellos genotipos capaces de limitar en mayor medida la fotoinhibición del FSII han sido más productivos. No obstante, la utilidad de la correlación Fv/Fm y la producción de grano como indicador del grado de resistencia a sequía en trigo duro es una cuestión controvertida. Di Marco *et al.*, (1988) y Araus *et al.*, (1998a) propusieron otros parámetros tales como Fo o Fm que pueden ser mejores indicadores del grado de resistencia a sequía. De hecho la alta heredabilidad encontrada en nuestro estudio para Fo y Fm apoya la propuesta de estos autores, ya que es posible seleccionar para estos parámetros en las primeras generaciones.

La depresión de la temperatura de la cubierta vegetal en antesis (CTDa) estuvo negativamente relacionada con el rendimiento, tanto en regadío como en secano. Nuestros resultados confirman lo que muchos autores han indicado sobre la utilidad de la CTD como herramienta para evaluar las diferencias en el rendimiento (Blum 1988; Blum *et al.*, 1989; Reynolds *et al.*, 1994, 1997, 1999). La utilidad de este criterio queda cuestionada en nuestro estudio por la baja heredabilidad encontrada bajo las condiciones del sur de España. Esta baja heredabilidad se encontró también en un estudio en el norte de España (Villegas, 2000), por lo que resulta ser un argumento en contra de la eficiencia en la utilización de este criterio en los programas de selección bajo condiciones mediterráneas.

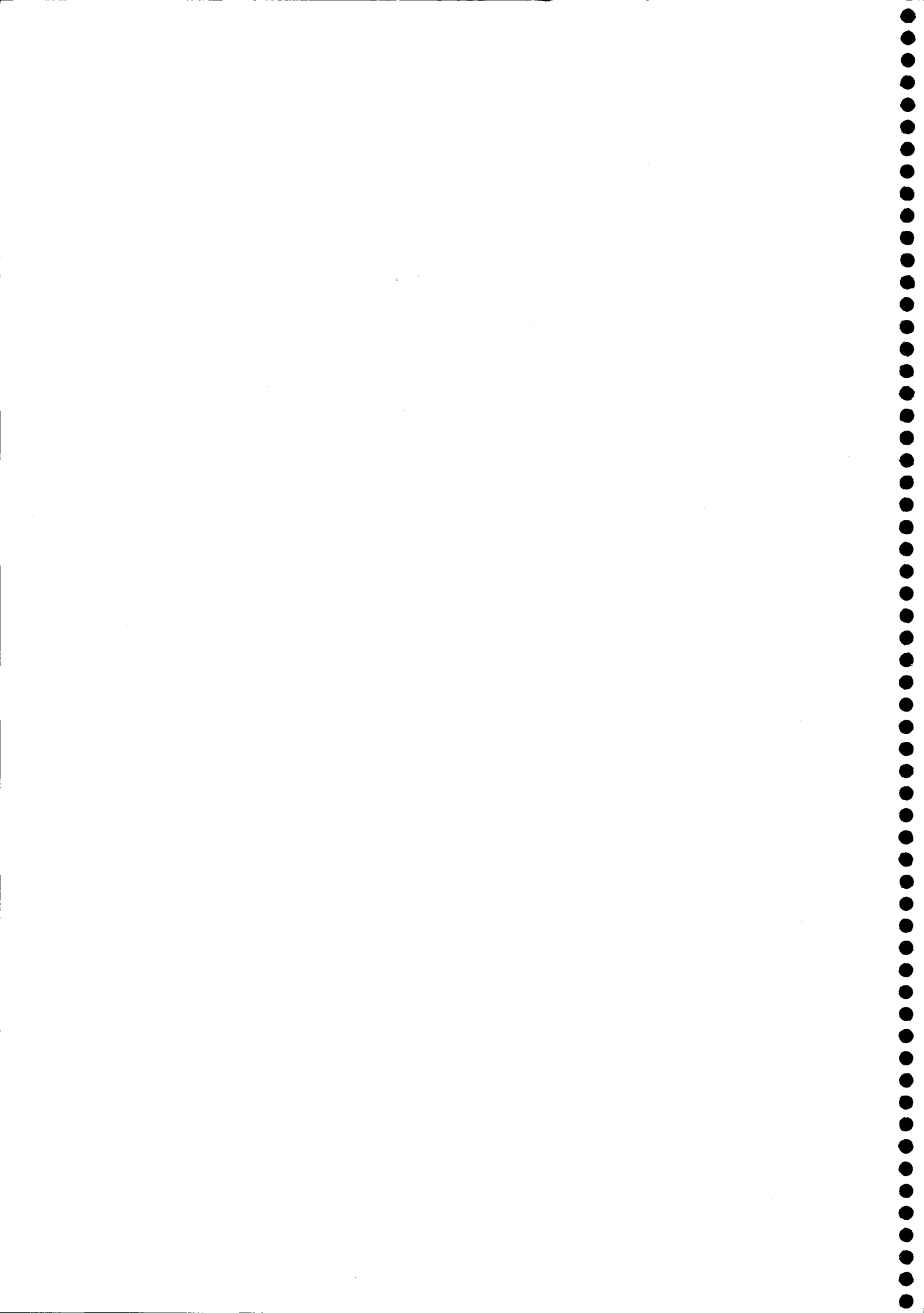
En nuestro estudio, la correlación entre la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ) y el rendimiento en grano ha sido significativa sólo bajo las condiciones

favorables del regadío (CIFA) y relativamente elevada, aunque no significativa, en Jerez. Recientemente se ha comentado que, bajo las condiciones mediterráneas, la relación de  $\Delta$  con el rendimiento en grano tiende a aumentar conforme mejoran las condiciones del cultivo, tanto en cebada (Voltas *et al.*, 1999) como en trigo duro (Villegas, 2000). A pesar de la relación positiva encontrada entre  $\Delta$  el rendimiento en grano en los ensayos del CIFA y Jerez, la heredabilidad de este carácter ha resultado ser muy baja en las condiciones de nuestro estudio, debido probablemente al escaso número de años utilizados (sólo 1998 y 1999).





# **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

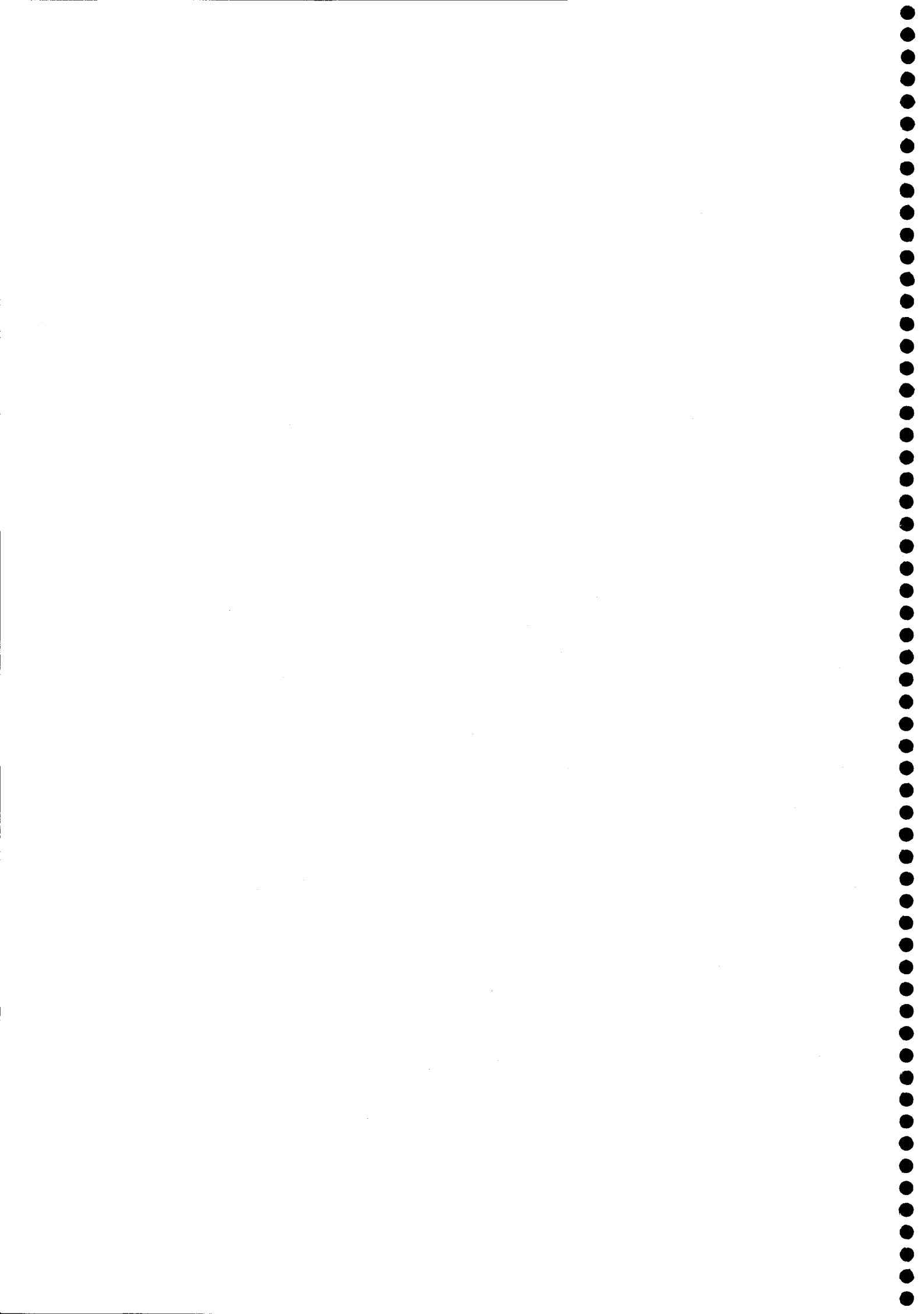
De la presente Tesis Doctoral se pueden extraer las siguientes conclusiones generales de aplicación para el cultivo de trigo duro en ambiente mediterráneo.

1. El factor ambiental (especialmente el régimen hídrico) tuvo una gran relevancia en la determinación de las diferencias observadas en el rendimiento en grano y el contenido en proteína. Así, las precipitaciones y las temperaturas mínimas alrededor del momento de la anthesis fueron las más determinantes.
2. La relación entre el rendimiento en grano y el contenido en proteína fue negativa, ajustándose mejor a una ecuación asintótica, en lugar de a la conocida regresión lineal. Ello indica que aumentos en el rendimiento en grano por encima de un cierto nivel bajo condiciones favorables no disminuyen el contenido en proteína, lo que nos permite concluir que es posible mejorar los dos caracteres de forma simultánea.
3. Los ambientes de secano permitieron la obtención de buenos valores para la mayoría de los parámetros de calidad. El secano de Jerez resulta ser un ambiente muy idóneo para la creación de variedades con alta calidad, ya que parece estimular una mejor expresión del potencial genético y favorece la manifestación de todos los parámetros de calidad en condiciones óptimas.
4. Los genotipos estudiados mostraron buenos niveles de calidad para todos los parámetros. La excepción ha sido el color amarillo de la sémola, que parece haber sido influido negativamente por las condiciones agronómicas de nuestros ensayos.
5. En cuanto a la relación entre los distintos parámetros de calidad estudiados, se destaca la correlación positiva del peso específico con el contenido en proteína, y del contenido en pigmentos con la vitrosidad, lo que demuestra la posibilidad de una selección paralela de estos parámetros. Se manifestó, también, una

relación inversa entre el contenido en proteína y el volumen de sedimentación SDS, indicando que, bajo las condiciones de nuestro estudio, la selección para la cantidad de proteína en el grano se realiza a expensas de su calidad.

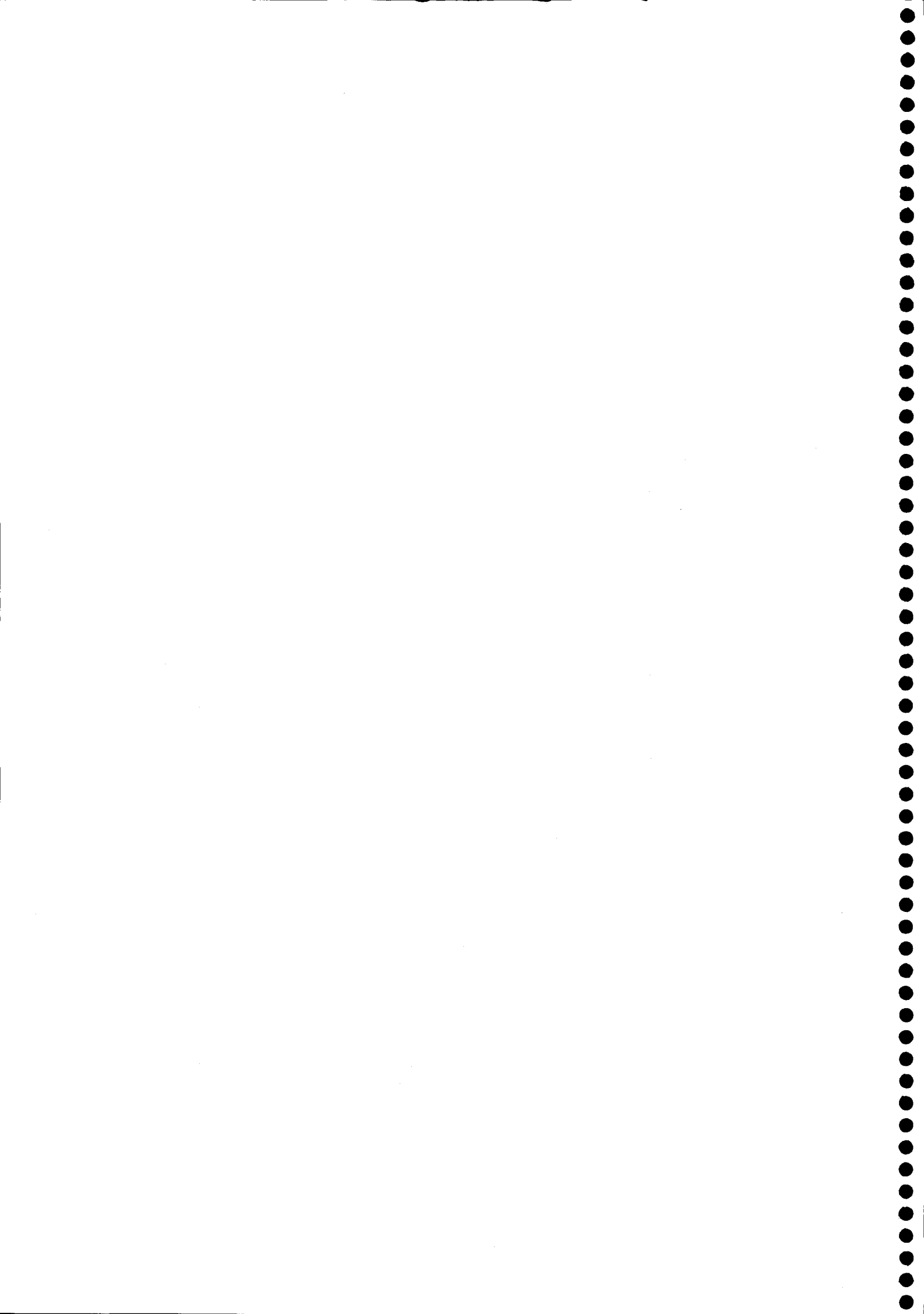
6. La sequía provocó la reducción del peso final del grano y de la duración del llenado, mientras que aumentó la tasa de acumulación de los carbohidratos en el grano. El peso final del grano y la tasa máxima del llenado del grano presentaron mayor dependencia genética que ambiental, mientras que la duración del llenado del grano presentó una fuerte influencia ambiental, sobre todo de la temperatura durante la última fase.
7. Las variaciones en el peso final del grano vinieron determinadas principalmente por la duración y la tasa del llenado del grano. Así, en los ambientes que reducen la tasa del llenado del grano, la duración del mismo determina mayoritariamente el peso del grano. En los ambientes que acortan la duración del llenado, la velocidad de translocación de asimilados hacia el grano parece determinante de su peso final.
8. El análisis de la regresión conjunta reveló una moderada capacidad para interpretar la interacción  $G \times E$  y explicó menos del 31% de la suma de cuadrados de dicha interacción. Por el contrario, el análisis multivariante AMMI explicó gran parte de la interacción, que se acumuló mayoritariamente en el primer eje de componentes principales (cerca de la mitad de la suma de cuadrados de la interacción). La fuerte interacción año  $\times$  ambiente encontrada en nuestro estudio, dificultó definir patrones de adaptación  $G \times E$  desde el punto de vista agronómico y ambiental.
9. La variedad comercial española Altar-aos fue la mejor dentro del conjunto de genotipos estudiados y reunió buenas propiedades, tanto de rendimiento como de calidad, presentando además una elevada estabilidad para ambos caracteres. De la colección de ICARDA, Waha demostró adaptarse bastante bien a las condiciones de nuestra zona, resultando ser de igual utilidad que Altar-aos.

10. La biomasa seca del cultivo en antesis y el índice de área foliar resultaron ser muy eficaces en determinar las variaciones en el rendimiento en grano lo que demuestra que bajo las condiciones de nuestros experimentos, la selección para estos índices de crecimiento puede resultar ser útil en la mejora del rendimiento en grano.
11. El contenido en clorofilas aparece como un carácter prometedor en la selección para la resistencia a la sequía, debido a su estrecha relación con el rendimiento y a la alta heredabilidad encontrada en nuestro estudio.
12. La fluorescencia rápida de la clorofila parece una herramienta útil de selección, especialmente bajo las condiciones favorables del cultivo, ya que su relación con el rendimiento bajo condiciones de sequía no fue suficientemente elevada.
13. La depresión de la temperatura de la cubierta vegetal en antesis estuvo negativamente relacionada con el rendimiento, tanto en regadío como en seco. La utilidad de este criterio queda cuestionada en nuestro estudio por la baja heredabilidad encontrada bajo las condiciones del sur de España.
14. La relación entre la discriminación isotópica del carbono  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta$ ) y el rendimiento en grano ha sido significativa sólo bajo las condiciones favorables del regadío (CIFA) y relativamente elevada, aunque no significativa, en Jerez. Por tanto,  $\Delta$  puede ser recomendado como criterio de selección más bien bajo condiciones favorables.





## **REFERENCIAS**





- Abecassi, J., P. Feuillet, 1985: Pureté des semoules de blé dur, taux de cendres et réglementation. *Ind. Cereal.* **36**, 13-18.
- Acevedo, E., 1991: Morphophysiological traits of adaptation of cereals to Mediterranean environments. In: E. Acevedo, C. Gimenez, E. Fereres, J.P. Srivastava, (eds). *Improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses*. Madrid, Spain. pp. 85-96.
- Acevedo, E., P.Q Craufurd, R.B. Austin, P. Perez-Marco, 1991: Traits associated with high yield in barley in low- rainfall environments. *J. Agric. Sci., Camb.* **116**, 23-36.
- AETC, 1994 a 2000: Encuesta de calidad de los trigos duros españoles. Cosecha 1994-2000 Asociación Española de Técnicos Cerealistas – Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Ali, N.M., 1995: Performance of high-protein mutant lines of *Triticum aestivum* (L.) under semi-arid conditions of Syria. *Field Crops Res.* **41**, 101-108.
- Ali-dib, T., Ph. Monneveux, E. Acevedo, Nachit, M.M. 1994: Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. durum). *Euphytica* **79**, 65-73
- Amani, I., R.A. Fischer, M.P. Reynolds, 1996: Canopy temperature depression association with yield of irrigated spring wheat cultivars in hot climate. *J. Agron. Crop Sci.* **176**, 119-129.
- Ames, N.P., J.M. Clarke, B.A. Marchylo, J.E. Dexter, S.M. Woods, 1999: Effect of environment and genotype on durum wheat gluten strength and pasta viscoelasticity. *Cereal Chem.* **76**, 582-586.

- Annicchiarico, P., 1997: Joint regression vs AMMI analysis of genotype-environment interactions for cereals in Italy. *Euphytica* **94**, 53-62.
- Annicchiarico, P., M. Perenzin, 1994: Adaptation patterns and definition of macro-environments for selection and recommendation of common-wheat genotypes in Italy. *Plant Breeding* **113**, 197-205.
- Araus, J.L., H.R. Brown, A. Febrero, J. Bort, M.D. Serret, 1993a: Ear photosynthesis, carbon isotope discrimination and the contribution of respiratory CO<sub>2</sub> to differences in grain mass in durum wheat. *Plant Cell Environ.* **16**, 383-392.
- Araus, J.L., M.P. Reynolds, E. Acevedo, 1993b: Leaf posture, grain yield, growth, leaf structure and carbon isotope discrimination in wheat. *Crop Sci.* **33**, 1273-1279.
- Araus, J.L., A. Febrero, R. Buxó, M.D. Camalich, D. Martín, F. Molina, M.O. Rodríguez-Ariza, I. Romagosa, 1997a: Changes in carbon isotope discrimination in grain cereals from different regions of the western Mediterranean Basin during the past seven millennia. Palaeoenvironmental evidence of a differential change in aridity during the late Holocene. *Glob. Change Biol.* **3**, 107-118.
- Araus, J.L.; J. Bort, S. Ceccarelli, S. Grando, 1997c: Relationship between leaf structure and carbon-isotope discrimination in field grown barley. *Plant Physiol. Bioch.* **35**, 533-541.
- Araus, J.L.; T. Amaro, Y. Zuhair, M.M. Nachit, 1997b: Effect of leaf structure and water status on carbon isotope discrimination in field grown-durum wheat. *Plant Cell and Environment* **20**, 1484-1494.
- Araus, J.L., T. Amaro, J. Voltas, H. Nakoul, M.M. Nachit, 1998a: Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Res.* **55**, 209-223.

- Araus, J.L., T. Amaro, J. Casadesús, A. Asbati, M.M. Nachit, 1998b: Relationships between ash content, carbon isotope discrimination and yield in durum wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **25**, 835-842.
- Austin, R.B., M.A. Ford, J.A. Edrich, R.D. Blackwell, 1977: The nitrogen economy of winter wheat. *J. Agric. Sci.* **88**, 159-167.
- Austin, R.B., J. Bingham, R.D. Blackwell, L.T. Evans, M.A. Ford, C.L. Morgan, M. Taylor, 1980a: Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *J. Agric. Sci.* **94**, 675-689.
- Austin, R.B., C.L. Morgan, M.A. Ford, R.D. Blackwell, 1980b: Contributions to grain yield from pre-anthesis assimilation in tall and dwarf barley phenotypes in two contrasting seasons. *Ann. Bot.* **45**, 309-319.
- Austin, R.B., M.A. Ford, C.L. Morgan, 1989: Genetic improvements in the yield of winter wheat: a further evaluation. *J. Agric. Sci.* **112**, 295-301.
- Austin, R.B., 1992: Can we improve on nature? In: D.R. Butxon, R. Shibles, R.A. Frosberg, B.L. Blad, K.H. Asay, G.M. Paulsen, R.F. Wilson. Abstracts of the First International Crop Science Congress, Ames, Iowa.
- Autran, J.C., J. Abecassis, P. Feillet, 1986: Statistical evaluation of different technological and biochemical tests for quality assessment in durum wheats. *Cereal Chem.* **63**, 390-394.
- Axford, D.W.E., E.E. McDermott, D.G. Redman, 1978: Small scale test of bread making quality. *Milling Feed Fert.* **161**, 18-20.
- Baezinger, P.S., R.L. Clements, M.S. McIntosh, W.T. Yamazaki, T.M. Starling, D.J. Sammons, J.W. Johnson, 1985: Effect of cultivar, environment, and their

- interaction and stability analyses on milling and baking quality of soft red winter wheat. *Crop Sci.* **25**, 5-8.
- Ballesteros, J.J., 1993: Base genética del contenido proteico en tritordeo. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España, 162 páginas.
- Basford, K.E., M. Cooper, 1998: Genotype × environment interaction and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Aust. J. Agric. Res.* **49**, 153-174.
- Becker, H.C., 1981: Correlations among some statistical measures of phenotypic stability. *Euphytica* **30**, 835-840.
- Becker, H.C., J. León, 1988: Stability analysis in plant breeding. *Plant Breeding* **101**, 1-23.
- Beninati, N.F., R.H. Busch, 1992: Grain protein inheritance and nitrogen uptake and redistribution in a spring wheat cross. *Crop Sci.* **32**, 1471-1475.
- Bhagsari, A.S., R.H. Brown, 1986: Leaf photosynthesis and its correlation with leaf area. *Crop Sci.* **26**, 127-131.
- Bhatt, J.M., 1973: Significance of path coefficient analysis in determining the nature of character association. *Euphytica* **22**, 338-343.
- Bhullar, S.S., C.F. Jenner, 1985: Differential responses to high temperature of starch and nitrogen accumulation in the grain of four cultivars of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **12**, 363-375.
- Bidinger, F.R., R.B. Musgrave, R.A. Fischer, 1977: Contribution of stored pre-anthesis assimilate to grain yield in wheat and barley. *Nature* **270**, 431-433.

- Biscoe, P.V., J.N. Gallagher, E.J. Littleton, J.L. Monteith, R.K. Scott, 1975: Barley and its environment. IV. Sources of assimilate for the grain. *J. App. Ecol.* **12**,: 295-318.
- Biscoe, P.V., J.N. Gallagher, 1977: Wheather, dry matter production and yield. In: J.J. Landsberg, C.V. Cutting (eds.), *Environmental effects on crop physiology*. pp. 75-100. Academic Press, London.
- Björkman, O. B. Demmig, 1987: Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**, 489-504.
- Blum, A., H. Poiarkova, G. Goland, J. Mayer, 1983: Chemical desiccation of wheat plants as a simulator of post-anthesis stress. I. Effects on translocation and kernel growth. *Field Crops Res.* **6**, 51-58.
- Blum, A. 1988. *Plant Breeding for Stress Environments*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Blum, A., L. Shpiler, G. Gozlan, J. Mayer, 1989: Yield stability and canopy temperature of wheat genotypes under drought stress. *Field Crops Res.* **22**, 289-296.
- Blumenthal, C.S., F. Bekes, I.L. Batey, C.W. Wrigley, H.J. Moss, D.J. Mares, E.W.R. Barlow, 1991: Interpretation of grain quality results from wheat variety trials with reference to high temperature stress. *Aus. J. Agric. Res.* **42**, 325-334.
- Blumenthal, C.S., E.W.R. Barlow, C.W. Wrigley, 1993: Growth environment and wheat quality: the effect of heat stress on dough properties and gluten proteins. *J. Cereal Sci.* **18**, 3-21.
- Boggini, G., M.A. Doust, P. Annicchiarico, L. Pecetti, 1997: Yielding ability, yield stability, and quality of exotic durum wheat germplasm in Sicily. *Plant Breed.* **116**, 541-545.

- Bolhar-Nordenkamp, H.R., S.P. Long, N.R. Baker, G. Öquist, U. Schreiber, y E.G. Lechner, 1989: Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecol.* 3, 497-514.
- Borghi, B., M. Corbellini, C. Minoia, M. Palumbo, N. Di Fonzo, M. Perenzin, 1997: Effects of Mediterranean climate on wheat bread-making quality. *Eur. J. Agron.* 6, 145-154.
- Brancourt-Hulmel, M., V. Biarnès-Dumoulin, J.B. Denis, 1997: Point de repère dans l'analyse de la stabilité de l'interaction genotype-milieu en amelioration des plantes. *Agronomie* 17, 219-246.
- Brocklehurst, P.A., 1977: Factors controlling grain weight in wheat. *Nature* 266, 348-349.
- Bruckner, P.L., R.C. Froberg, 1987: Rate and duration of grain filling in spring wheat. *Crop Sci.* 27, 451-455.
- Campbell, W.F., R.J. Wagenet, A.M. Bamatraf, D.L. Turner, 1980: Path coefficient analysis of correlation between stress and barley yield components. *Agron. J.* 72, 1012-1016.
- Carver, B.F., y E. Nevo, 1990: Genetic diversity of photosynthetic characters in native population of *Triticum dicoccoides*. *Photosynthesis Res.* 25, 119-128.
- Ceccarelli, S., E. Acevedo, y S. Grando, 1991. Analytical breeding for stress environments: Single traits, architecture of traits or architecture of genotypes. *Euphytica* 56, 169-185.
- Ceccarelli, S., S. Grando, 1996: Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant Growth Reg.* 20, 149-155.

- Clarke, J.M., 2000: Improvement of durum wheat grain quality: Breeding. In: Abecassis, J., P. Braun, P. Feuillet, P. Joudrier, B. Pascal, y P. Roumet (Eds.). Proceedings of the international workshop on durum wheat, semolina and pasta quality: recent achievements and new trends. Montpellier, Francia, pp:16-43.
- Condon, A.G. R.A. Richards, 1993: Exploring genetic variation in transpiration efficiency in wheat: an agronomic view. En: J.R. Ehrelinger, A.E. Hall, G.D. Farquhar, (eds). Stable Isotopes and Plant Carbon/Water Relations. pp, 435-450. Academic press, New York, NY.
- Condon, A.G., A.E. Hall, 1997: Adaptation to diverse environments: variation in water-use efficiency within crop species. In: L.E. Jackson (ed.). Ecology in Agriculture. pp. 79-116. Academic Press.
- Condon, A.G., G.D. Farquhar, R.A. Richards, 1990: Genotypic variation in carbon isotope discrimination and transpiration efficiency in wheat. Leaf gas exchange and whole plant studies. *Aust. J. Plant Physiol.* 17, 9-22.
- Condon, A.G., R.A Richards, G.D. Farquhar, 1987: Carbon isotope discrimination is positively correlated with grain yield and dry matter production in field-grown wheat. *Crop Sci.* 27, 996-1001.
- Condon, A.G., R.A. Richards, G.D. Farquhar, 1992: The effect of variation in soil water availability, vapour pressure deficit and nitrogen nutrition on carbon isotope discrimination in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 43, 935-947.
- Correl, R., J. Butler, L. Spouncer, C. Wrigley, 1994: The relationship between grain-protein content of wheat and barley and temperatures during grain filling. *Aust. J. Plant Physiol.* 21, 869-873.

- Cox, M.C., C.O. Qualset, D.W. Rains, 1985: Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat. II. Nitrogen assimilation in relation to grain yield and protein. *Crop Sci.* **25**, 435-440.
- Cox, M.C., C.O. Qualset, D.W. Rains, 1986: Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat. III. Nitrogen translocation in relation to grain yield and protein. *Crop Sci.* **26**, 737-740.
- Craufurd, P.Q., N.J. Clipson, R.B. Austin, 1987: An approach to defining an ideotype for barley in low-rainfall Mediterranean environments. Proc. Symp. Improving Winter Cereals under Temperatures and Soil Salinity Stresses, Cordoba, Spain.
- Craufurd, P.Q., R.B.; Austin, E. Acevedo, M.A. Hall, 1991: Carbon isotope discrimination and grain yield in barley. *Field Crops Res.* **27**, 301-313.
- Cubero, J.I., F. Flores, 1995: Métodos Estadísticos para el Estudio de la Estabilidad Varietal en Ensayos Agrícolas. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca (ed.). Colección: Monografías, 12/94.
- Darroch, B.A., R.J. Baker, 1990: Grain filling in three spring wheat genotypes: Statistical analysis. *Crop Sci.* **30**, 525-529.
- De la morena, I., A. Guillén, L.F. García del Moral, 1994: Yield development in potatoes as influenced by cultivar and the timing and level of nitrogen fertilization. *Americ. J. Potat.* , 165-173.
- Demmig-Adams, B., W.A. Adams, D. Barker, B.A. Logan, D.R. Bowling A.S. Verhoeven, 1996: Using chlorophyll fluorescence to asses the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol. Plant.* **98**, 253-264.



- Dewey, D.R., K.H. Lu, 1959: A correlation and path coefficient analysis of component of crested wheatgrass seed production. *Agron. J.* **51**, 515-518.
- Dexter, J.E., R.R. Matsuo, F.G. Kosmolak, D. Leisle, y B.A Marchylo, 1980: the suitability of the SDS-sedimentation test for assessing gluten strength in durum wheat. *Can. J. Plant Sci.* **60**, 25-29.
- Di Marco, G., A. Massacci, R. Gabrielli, 1988: Drought effects on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiol. Plant.* **74**, 385-390.
- Donald, C., M. J. Hamblin, 1976: The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Adv. Agron.* **28**, 361-405.
- Earl, H.J., M. Tollenaar, 1997: Maize leaf absorbance of photosynthetically active radiation and its estimation using a chlorophyll meter. *Crop Sci.* **37**, 436-440.
- Eberhart, S.A., W.A. Russell, 1966: Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* **6**, 36-40.
- Edmeades, G.O., J. Bolanos, H.R. Lafitte, S. Rajaram, W. Pfeiffer, R.A. Fisher, 1989: Traditional approaches to breeding for drought resistance in cereals. In: F.W.G. Baker (ed.), *Drought Resistance in Cereals*, 27-52. ICSU Press. C.A.B. International.
- Ehdaie, B., A.E. Hall, G.D. Farquhar, H.T. Nguyen, J.G. Waines, 1991: Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in wheat. *Crop Sci.* **31**, 1282-1288.
- Evans, L.T. 1983. *Fisiología de los cultivos. Hemisferio sur S.A.* 402 p.
- Fares, D.I., C. Platani, G. Tamma, F. Leccese, 1991: Microtest per la valutazione del colore in genotipi di frumento duro. *Molini D'Italia* **12**, 19-21.

- Farquhar, G.D., R.A. Richards, 1984: Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use-efficiency of wheat genotypes. *Aust. J. Plant Physiol.* **11**, 539-552.
- Farquhar, G.D., S.C. Wong, J.R. Evans, K.T. Hubick, 1989a: Photosynthesis and gas exchange. In: H.G. Jones, T.J. Flowers y M.B. Jones (eds.). *Plants under Stress*. pp. 47-69, Cambridge University Press, Cambridge.
- Farquhar, G.D.; J.R. Ehleringer, K.T. Hubick, 1989b: Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **14**, 271-274.
- Fernandez-Figares, I., J. Marinetto, C. Royo, J.M. Ramos, L.F. García del Moral, 2000: Amino-acid composition and protein and carbohydrate accumulation in the grain of triticale grown under terminal water stress simulated by a senescing agent. *J. Cereal Sci.* **32**, 249-258.
- Finlay, K.W., G.N. Wilkinson, 1963: The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. Agric. Res.* **14**, 742-754.
- Fischer, R.A., D. Rees, K.D. Sayre, Z. Lu, A.G. Condon, A. Larqué-Saavedra, E. ZEIGER 1998: Wheat yields progress is associated with higher stomatal conductance, higher photosynthetic rate and cooler canopies. *Crop Sci.* **38**, 1476-1475.
- Flagella, Z., D. Pastore, R.G. Campanile, N. di Fonzo, 1995: The Quantum yield of photosynthetic electron transport evaluated by chlorophyll fluorescence as an indicator of drought tolerance in durum wheat. *J. Agric. Sci.* **125**, 325-329.
- Flores, F., M.T. Moreno, J.I. Cubero, 1998: A comparison of univariate and multivariate methods to analyse G×E interaction. *Field Crops Res.* **56**, 271-286.
- Fox, P.N., A.A. Rosielle, 1982: Reducing the influence of environmental main-effects on pattern analysis of plant breeding environments. *Euphytica* **31**, 645-656.

- Fox, P.N., J. Crossa, I. Romagosa, 1997: Multi-environment testing and genotype  $\times$  environment interaction. In: R.A. Kempton, and P.N. Fox (Eds). *Statistical Methods for Plant Variety Evaluation*. 117-138. Chapman & Hall, London.
- Gallagher, J.N., P.V. Biscoe, R.K. Scott, 1975: Barley and its environment. V. Stability of grain weight. *J. Appl. Ecol.* **12**, 563-568.
- Gallagher, J.N., P.V. Biscoe, 1978a: A physiological analysis of cereal yield. 2. Partitioning of dry matter. *Agric. Progress* **53**, 51-70.
- Gallagher, J.N., P.V. Biscoe, 1978b: Radiation absorption, growth and yield of cereals. *J. Agric. Sci.* **91**, 47-60.
- Gallagher, J.N., 1979: Field studies of cereal leaf growth. I. Initiation and expansion in relation to temperature and ontogeny. *J. Exp. Bot.* **30**, 625-636.
- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, L. Recalde, 1984: Tillering dynamics of winter barley as influenced by cultivar and nitrogen fertilizer: A field study. *Crop. Sci.* **24**, 179-181.
- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, L. Recalde, 1985: Relationships between vegetative growth, grain yield and grain protein content in six winter barley cultivars. *Can. J. Plant Sci.* **65**, 523-532.
- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, 1989: Fisiología de la producción de grano. In: J.L. Molina-Cano (ed.). *La cebada*. pp. 137-178. Mundi-Prensa-MAPA., Madrid.
- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, M.B. Garcia Del Moral, P. Jimenez-Tejada, 1991: Ontogenetic approach to grain production in spring barley based on path-coefficient analysis. *Crop Sci.* **31**, 1179-1185.

- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, M.B. García del Moral, 1992: El análisis por coeficientes de sendero y su aplicación al estudio de las relaciones entre el rendimiento y sus componentes en la cebada. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.*
- García del Moral, L.F., A. Boujenna, J.A. Yáñez, J.M. Ramos, 1995: Forage production, grain yield, and protein content in dual-purpose triticale grown for both grain and forage. *Agron. J.* **87**, 902-908.
- García del Moral, M.B., L.F. García del Moral. 1995: Tiller production and survival in relation to grain yield in winter and spring barley. *Field Crop Res.* **44**, 85-93.
- García del Moral, L.F., M.B. García del Moral, A. Boujenna, J.M. Ramos, 1996: Acumulación de proteínas en el grano de cebada en ambiente mediterráneo. In: *Nutrición Mineral de las Plantas en la Agricultura Sostenible*. Sarmiento, R., E.O. Leidi, A. Troncoso (Eds.), 275-279, Junta de Andalucía, Sevilla,
- García del Moral, L.F., A. Sopena, J.L. Montoya, P. Polo, J. Voltas, P. Codesal, J.M. Ramos, J.L. Molina-Cano, 1998: Image analysis of grain and chemical composition of the barley plant as a predictor of malting quality in Mediterranean environments. *Cereal Chem.* **75**, 755-761.
- García del Moral, L.F., J.M. Ramos, M.B. García del Moral, J.L. Molina-Cano, 2001: Growth, remobilization of pre-anthesis reserves and grain yield of spring barley under Mediterranean conditions. I. Environmental adaptation in long-term experiments. *Aust. J. Agric. Res.* (bajo revisión).
- Gebeyehou, G., D.R. Knot, R.J. Baker, 1982a: Relationships among durations of vegetative and grain filling phases, yield components, and grain yield in durum wheat cultivars. *Crop Sci.* **22**, 287-290.
- Gebeyehou, G., D.R. Knot, R.J. Baker, 1982b: Rate and duration of grain filling in durum wheat cultivars. *Crop Sci.* **22**, 337-340.

- Genty, B., J.M. Briantais, N. Baker, 1989: The relationships between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophysic. Acta* **990**, 87-92.
- Gleadow, R.M., M.J. Dalling, G.M. Halloran, 1982: Variation in endosperm characteristics and nitrogen content in six wheat lines. *Aust. J. Plant. Physiol.* **9**, 539-551.
- González-Moro, M.B., M. Lacuesta, N. Iriberry, A. Muñoz-Rueda, C. González-Murua, 1997: Comparative effects of PPT and AOA on photosynthesis and fluorescence chlorophyll parameters in *Zea mays*. *J. Plant Physiol.* **151**, 641-648.
- Gooding, M.J., W.P. Davies, 1997: *Wheat Production and Utilization: Systems, Quality and the Environment*. CAB International.
- Grausgruber, H., M. Oberforster, M. Werteker, P. Ruckebauer, J. Vollmann, 2000: Stability of quality traits in Austrian-grown winter wheats. *Field Crops Res.* **66**, 257-267.
- Graybosh, R.A., C.J. Peterson, P.S Baenziger, D.R. Shelton, 1995: Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. *J. Cereal Sci.* **22**, 45-51.
- Gusta, L.V., T.H.H. Chen, 1987: The physiology of water and temperature stress. In: E.G. Heyne (ed.). *Wheat and wheat improvement*. American Society of Agronomy, No. 13, pp. 154-164, Madison, Wisconsin.
- Hadjichristodoulou, A., 1985: The stability of the number of tillers of barley genotypes and its relation with consistency of performance under semi-arid conditions. *Euphytica*, **34**: 641-649.

- Hadjichristidou, A., 1991: The relationship of grain yield with harvest index and total biological yield of barley in drylands. Technical Bulletin N° 126. Agricultural Research Institute, Nicosia, Cyprus.
- Hallauer, A.R., J.B. Miranda, 1981: Quantitative Genetics in Maize Breeding. Iowa State University Press. Ames, IA.
- Hamid, Z.A., J.E. Grafius, 1978: Developmental allometry and its implication to grain yield in barley. *Crop Sci.* **18**, 83-86.
- Hanson, P.R., T.J. Riggs, S.J. Klose, R.B. Austin, 1985: High biomass genotypes in spring barley. *J. Agric. Sci.* **105**, 73-78.
- Havaux, M., 1993: La fluorescence de la chlorophylle in vivo: quelques concepts appliqués à l'étude de la résistance de la photosynthèse aux contraintes de l'environnement. In: Ph. Monneveux, M. Ben Salem (eds.). *Tolérance à la Sécheresse des Céréales en Zone Méditerranéenne. Diversité génétique et Amélioration Variétale*. pp. 19-29, Ed. INRA, Les Colloques n° 64, Paris.
- Havaux, M., M. Ernez, R. Lannoye, 1988: Sélection de variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.) adaptées à la sécheresse par la mesure de l'extinction de la chlorophylle in vivo. *Agronomie* **8**, 193-199.
- Hubick, K., G.D. Farquhar, 1989: Carbon isotope discrimination and the ratio of carbon gained to water lost in barley cultivars. *Plant Cell Environ.* **12**, 795-784.
- Jandel Co., 1994: TableCurve™ 2D User's Manual. Jandel Corporation: San Rafael, CA.
- Jenner, C.F., 1991: Effects of exposure of wheat ears to high temperature on dry matter accumulation and carbohydrate metabolism in the grain of two cultivars. II. Carry-over effects. *Aust. J. Plant Physiol.* **18**, 179-190.

- Jenner, C.F., T.D. Uglade, D. Aspinall, 1991: The physiology of starch and protein deposition in the Endosperm of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **18**, 211-226.
- Jenner, C.F., 1994: Starch synthesis in the kernel of wheat under high temperature conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* **21**, 791-806.
- Jimenez Gonzalez, A.T., 1995: Milling process of durum wheat. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. **22**, 43-51.
- Jones, R.A., C.O. Qualset, 1984: Breeding crops for environmental stress tolerance. In: Collins, G.B.; Petolino, J.G. (eds), Applications of Genetic Engineering to Crop Improvement, Nijhoff, 305-340.
- Juan-Aracil, J., A. Michelena, 1995: Durum wheat in Spain. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. **22**, 117-121.
- Kaan, F., B. Chihab, C. Borriès, P. Monneveux y G. Branlard, 1995: Prebreeding and breeding durum wheat germplasm (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) for quality products. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. **22**, 159-166.
- Ketata, H., S.K. Yan, M. Nachit, 1989: Relative consistency performance across environments. In: Int. Sym. on Physiology and Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments. Montpellier. July 3-6, 1989, pp:

- Kimber, G., Sears, E.R. 1987: Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat. In: E.G. Heyne (ed), *Wheat and Wheat Improvement*. American Society of Agronomy, **13**: 154-164, Madison, Wisconsin.
- Kolderup, F., 1975: Effects of temperature, photoperiod and light quality on protein production in wheat grains. *J. Sci. Food Agric.* **26**, 583-592.
- Kramer, Th., 1979: Environmental and genetic variation for protein content in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* **28**, 209-218.
- Krause, G.H., E. Weiss, 1991: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**, 313-349.
- Kvet, J., J.P. Ondok, J. Necas, P.G. Jarvis, 1971: Methods of growth analysis. In: Z. Sestak, J. Catsky, P.G. Jarvis (eds), *Plant Photosynthesis Production. Manual of Methods*, 343-391. Dr. W. Junk N.V., The Hague.
- Landi, A., 1995: Durum wheat, semolina and pasta quality characteristics for an Italian food company. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). *Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. 22*, 33-42.
- Landsberg, J.J., 1977: Effects of weather on plant development. In: J.J. Landsberg, C.V. Cutting (Eds.). *Environmental Effects on Crop Physiology*. Academic Press, London, pp. 289-307.
- Langer, I., K.J. Frey, T. Bailey, 1979: Associations among productivity, production response and stability indexes in oat varieties. *Euphytica* **28**, 17-24.
- Lawlor, D.W., W. Day, A.E. Johnston, B.J. Legg, K.J. Parkinson, 1981: Growth of spring barley under drought: Crop development, photosynthesis, dry-matter accumulation and nutrient content. *J. Agric. Sci.* **96**, 167-186.



- Léon, J., 1985: Beiträge zur erfassung der phänotypischen stabilität unter besonderer berüeckichtigung unterschiedlincher heterogenitäts- und heterozygotiegrade sowie einer zusammenfassenden beurteilung von ertragshöhe und ertragssicherheit. Desseration, Christian-Albrechts-Universität Kiel.
- Li, C.C., 1955: The theory of path coefficients. In: Population Genetics, pp. 144-171. The University of Chicago Press, Chicago.
- Li, C.C., 1956: The concept of path coefficients and its impact on population genetics. Biometrics **12**, 190-210.
- Li, C.C., 1975: Path analysis- a primer. Boxwood Press, Pacific Grove, California.
- Lin, C.S., M.R. Binns, L.P. Lefkovitch, 1986: Stability analysis: Where do we stand? Crop Sci. **26**, 894-900.
- Lindhauer, M.G., 2000: Analytical methods utilized in the durum wheat chain. In: Abecassis, J., P. Braun, P. Feuillet, P. Joudrier, B. Pascal, P. Roumet (Eds.). Proceedings of the international workshop on durum wheat, semolina and pasta quality: recent acheivements and new trends. Montpellier, Francia, pp: 102-116.
- Liu, C.Y., A.J. Rathjen, K.W. Shepherd, P.W. Gras, L.C. Giles, 1995: Grain quality and yield characteristics of D-genome disomic substitution lines in 'Langdon' (*Triticum turgidum* var. *durum*). Plant Breed. **114**, 34-39.
- Loffler, C.M., R.H. Busch, 1982: Selection for grain protein, grain yield, and nitrogen partitioning efficiency in hard red spring wheat. Crop Sci. **22**, 591-595.
- López Bellido, L., 1990: Cultivos Herbáceos. Vol. I : Cereales. Ediciones Mundi-Prensa. 539 páginas.

- Loss, S.P. K.H.M. Siddique, 1994: Morphological and physiological traits associated with wheat yield increases in Mediterranean environments. *Advan. Agron.*, **52**: 229- 276.
- Loss, S.P., E.J.M. Kirby, K.H.M. Siddique, M.W. Perry, 1989: Grain growth and development of old and modern Australian wheats. *Field Crops Res.* **21**, 131-146.
- Ludlow, M.M., R.C. Muchow, 1989: A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv. Agron.* **43**, 107-153.
- Ma, B.L., M.J. Morrison, H.D. Voldeng, 1995: Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Sci.* **35**, 1411-1414.
- Ma, B.L., L.M. Dwyer, 1997: Determination of nitrogen status in maize senescing leaves. *J. Plant Nut.* **20**, 1-8.
- Mandel, J., 1961: Non-additivity in two-way analysis of variance. *J. Amer. Statist. Assoc.* **56**, 878-888.
- Mandel, J., 1971: A new analysis of variance model for non-additive data. ....**13**, 1-18.
- Mariani, B.M., M.G. D'Egidio, P. Novaro, 1995: Durum wheat quality evaluation: Influence of genotype and environment. *Cereal Chem.* **72**, 194-197.
- Marinetto, J., 1992: Influencia del corte de la parte aérea (pastoreo simulado) en la producción posterior de triticale. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Martínez-Carrasco, R., P. Pérez, L.L. Handley, C.M. Scrimgeour, M. Igual, I. Martín Del Molino, y Sánchez De La Puente, 1998: Regulation of growth, water use efficiency and  $\Delta^{13}\text{C}$  by the nitrogen source in *Casuarina equisetifolia* Forst. & Forst. *Plant, Cell Environ.* **21**, 531-534.

- Matsuo R.R., J.E. Dexter, F.G. Kosmolak, D. Leisle, 1982: Statistic evaluation of tests for assessing spaghetti-making quality of durum wheat. *Cereal Chem.* **59**, 222-228.
- Michelena, A., I. Romagosa, J.A. Martin, A. Lopez, 1995a: Influencia ambiental y varietal en diferentes parámetros de calidad y rendimiento en trigo duro. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* **10**, 192-201.
- Michelena, A., I. Romagosa, J.A. Martin, A. Lopez, 1995b: Estabilidad de la calidad y el rendimiento del trigo harinero. *Invest. Agr: Prod. Prot. veg.* **10**, 204-213.
- Miralles, D.J., G.A. Slafer, 1999: Wheat development. In: E.H. Satorre, G.A. Slafer (Eds). *Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination*. Haworth Press, Inc., Binghamton, NY, pp. 13-41.
- Mooers, C.A., 1921: The agronomic placement of varieties. *J. Amer. Soc. Agronomy* **13**, 337-352.
- Morancho, J., 2000: Production et commercialisation du blé dur dans le monde. In: C. Royo, M.M. Nachit, N. di Fonzo, J.L. Araus (Eds). *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges*, Zaragoza, Spain, *Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens*, No. **40**, 29-33.
- Morgan, J.A., D.R. LeCain, y R. Wells, 1990: Semidwarfing genes concentrate photosynthetic machinery and affect leaf gas exchange of wheat. *Crop Sci.* **30**, 602-608.
- Morgan, J.A. D.R. LeCain, 1991: Leaf gas exchange and related leaf traits among 15 winter wheat genotypes. *Crop Sci.* **31**, 443-448.
- Morgan, J.A., D.R. Lecain, T.N. McCaigh, J.S. Quick, 1993: Gas exchange, carbon isotope discrimination and productivity in winter wheat. *Crop Sci.* **33**, 178-186.

- Motzo, R., F. Giunta, M. Deidda, 1996: Relationships between grain-filling parameters, fertility, earliness and grain protein of durum wheat in a Mediterranean environment. *Field Crops Res.* **47**, 129-142.
- Nachit, M.M., M.E. Sorrells, R.W. Zobel, H.G. Gauch, R.A. Fischer, W.R. Coffman, 1992a: Association of morpho-physiological traits with grain yield and components of genotype-environment interaction in durum wheat. *J. Genet. and Breed.*, **46**: 363-368.
- Nachit, M.M., M.E. Sorrells, R.W. Zobel, H.G. Gauch, R.A. Fischer, W.R. Coffman, 1992b: Association of environmental variables with sites' mean grain yield and components of genotype-environment interaction in durum wheat. *J. Genet. & Breed.* **46**, 369-372.
- Nachit, M.M., G. Nachit, H. Ketata, H.G. Gauch, R.W. Zobel, 1992c: Use of AMMI and linear regression models to analyse genotype-environment interaction in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* **83**, 597-601.
- Nachit, M.M., M. Baum, A. Impiglia, H. Ketata, 1995: Studies on some grain quality traits in durum wheat grown in Mediterranean region. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). *Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. 22*, 181-187.
- Nair, T.V.R., S.R. Chatterjee, 1990: Nitrogen metabolism in cereals -Case studies in wheat, rice, maize and barley. In: Abrol, Y.P. (ed.) *Research Studies Press Ltd., Somerset, England.* pp. 367-426.
- Nass, H.G, B. Reiser, 1975: Grain filling period and grain yield relationships in spring wheat. *Can. J. Plant Sci.* **55**, 673-678.

- Neilsen, D., E.J. Hoghe, G.H. Neilsen, P. Parchonchuk, 1995: Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple-trees. *Hortsc.* **30**, 508-512.
- Nogués, S., L. Alegre, J.L. Araus, L. Perez-Aranda, y R. Lannoye, 1994: Modulated chlorophyll fluorescence and photosynthetic gas exchange as rapid screening methods for drought tolerance in barley genotypes. *Photosynthetica* **30**, 465-474.
- Novaro, P., M.G. D'Egidio, L. Bacci, B.M. Mariani, 1997: Genotype and environment: their effect on some durum wheat quality characteristic. *J. Genet. & Breed.* **51**, 247-252.
- Öquist, G., R. Wass, 1988: A portable, microprocessor operated instrument for measuring chlorophyll fluorescence kinetics in stress physiology. *Physiol. Plant.* **73**, 211-217.
- Panozzo, J.F., H.A. Eagles, 1999: Rate and duration of grain filling and grain nitrogen accumulation of wheat cultivars grown in different environments. *Aust. J. Agric. Res.* **50**, 1007-1015.
- Passioura, J.B., 1981: The interaction between the physiology and the breeding of wheat. In: L.T.; Evans, W.J. Peacock, (eds.) *Wheat Science; Today and Tomorrow*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Pecetti, L., G. Boggini, M.A. Doust, P. Annicchiarico, 1996: Performance of durum wheat landraces from Jordan and Morocco in two Mediterranean environments (northern Syria and Sicily). *J. Genet. Breed.* **50**, 41-46.
- Peltonen, J., A. Virtanen, E. Haggren, 1995: Using a chlorophyll method to optimise nitrogen fertiliser application for intensively-managed small-grain cereals. *J. Agron. Crop Sci.* **174**, 309-318.

- Penning de Vries, F.W.T., A.H.M. Brunsting, H.H. Van Laar, 1974: Products, requirements and efficiency of biosynthesis: A quantitative approach. *J. Theor. Biol.* **45**, 339-377.
- Peterson, C.J., P.S. Graybosch, P.S. Baenziger, A.W. Grombacher, 1992: Genotype and environment effects on quality characteristics of hard red winter wheat. *Crop Sci.* **32**, 98-103.
- Pheloung, P.C., K.H.M. Siddique, 1991: Contribution of stem dry matter to grain yield in wheat cultivars. *Aust. J. Plant Physiol.* **18**, 53-64.
- Pinter, P.J., G. Zipoli, R.J. Reginato, R.D. Jackson, S.B. Idso, J.P. Hohman, 1990: Canopy temperature as an indicator of differential water-use performance among wheat cultivars. *Agric. Water Manage.* **18**, 35-48.
- Pleijel, H., L. Mortensen, J. Fuhrer, K. Ojanpera, H. Danielsson, 1999: Grain protein accumulation in relation to grain yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in open-top chambers with different concentrations of ozone, carbon dioxide and water availability. *Agric. Ecosys. & Env.* **72**, 265-270.
- Porceddu, E., 1995: Durum wheat quality in the Mediterranean countries. In: di Fonzo, N., F. Kaan, M. Nachit (Eds.). Proceedings of the seminar on durum wheat quality in the Mediterranean region, Zaragoza, Spain, Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens, No. **22**, 11-21.
- Pozo, C, J.M. Ramos, L.F. García del Moral, J.A. Alvarez, 1992: Relaciones entre el rendimiento y sus componentes en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) bajo dosis variables de nitrógeno. *Inv. Agr.: Prod. Prot. Veg.* **7**, 407-415.
- Pury, Y.P., C.O. Qualset, W.A. Williams, 1982: Evaluation of yield components as selection criteria in barley breeding. *Crop Sci.* **22**, 927-931.

- Pushman, F.M., J. Bingham, 1975: Components of test weight of ten varieties of winter wheat grown with two rates of nitrogen fertilizer application. *J. Agric. Sci.* **85**, 559-563.
- Ramos, J.M.; L.F. Garcia del Moral, L. Recalde, 1982: The influence of pre-and post-anthesis periods on yields of winter barley varieties in southern Spain. *J. agric. Sci.*, **99**: 521-523.
- Ramos, J.M., L.F. García del Moral, L. Recalde, 1985: Vegetative growth of winter barley in relation to environmental conditions and grain yield. *J. Agric. Sci. Camb.* **104**, 413-419.
- Ramos, J.M., L.F. García del Moral, J.L. Molina-Cano, P. Salamanca, F. Roca de Togores, 1989: Effects of an early application of sulphur or etephon an foliar spray on the growth and yield of spring barley in a Mediterranean environment. *J. Agron. Crop Sci.* **163**, 129-137.
- Ramos, J.M., M.B. Garcia DEL Moral, J. Marinetto, L.F. García del Moral, 1993: Sowing date and cutting frequency , effects on triticales forage and grain production. *Crop Sci.* **33**, 1312-1315.
- Rao, A.C.S., J.L. Smith, V.K. Jandhyala, R. I. Papendick, J. F. Parr, 1993: Cultivar and climatic effects on protein content of soft white winter wheat. *Agron. J.* **85**, 1023-1028.
- Rawson, H.M., R.A. Richards, 1993: Effects of high temperature and photoperiod on floral development in wheat isolines differing in vernalisation and photoperiod genes. *Field Crops Res.* **32**, 181-192.
- Reynolds, M.P., M. Balota, M.I.B. Delgado, I. Amani, R.A. Fisher, 1994: Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot, irrigated conditions. *Aust. J. Plant. Physiol.* **21**, 717-730.

- Reynolds, M.P., J. van Beem, M. van Ginkel, D. Hoisington, 1996: Breaking the yield barriers in wheat: a brief summary of the outcomes of an international consultation. In: M.P. Reynolds, S. Rajaram, A. McNab, (eds). *Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the Barriers*. pp, 1-10. CIMMYT, Mexico DF.
- Reynolds, M.P., S. Ragarajan, M.A. Razzaque, O.A.A. Ageeb, 1997: Using canopy temperature depression to select for yield potential of wheat in heat-stressed environments. *Wheat special report n° 42*. CIMMYT, Mexico DF.
- Reynolds, M.P., R.P. Singh, A. Ibrahim, O.A.A. Ageeb, A. Larqué-Saavedra, J.S. Quick, 1998: Evaluating physiological traits to complement empirical selection for wheat in warm environments. *Euphytica* **100**, 84-95.
- Reynolds, M.P., K.D. Sayre, y S. Rajaram, 1999: Physiological and genetic changes of irrigated wheat in the post green revolution period and approaches for meeting projected global demand. *Crop Sci.* **39**, 1611-1621.
- Reynolds, M.P., M. van Ginkel, J.M. Ribaut, 2000: Avenues for genetic modification of radiation use efficiency in wheat. *J. Exp. Bot.* **51**, 459-473.
- Rharrabti, Y.; S. ElHani, V. Martos Nuñez, L.F. García del Moral, 2000: Relationship between some quality traits and yield of durum wheat under southern Spain conditions. In: Royo, C., M.M. Nachit, N. di Fonzo, J.L. Araus (Eds). *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges*, Zaragoza, Spain, *Options Méditerranéennes: serie A: Séminaires Méditerranéens*, No. **40**, 529-531.
- Richards, R.A., 1987: Physiology and the breeding of winter-grown cereals for dry areas. In: J. P.; Srivastava, E.; Porceddu, E.; Acevedo, S. Varma (eds.) *Drought Tolerance in Winter Cereals*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, England. pp. 133-150.



- Richards, R.A., 1991: Crop improvement for temperate Australia: Future opportunities. *Field Crop Res.* **26**, 141-169.
- Richards, R.A. A.G. Condon, 1993: Challengers ahead in using carbon isotope discrimination in plant breeding programs.. In: J.R Ehlinger, GD Farquhar (eds.). *Stable Isotopes and Plant Carbon-Water Relations*. Academic Press. San Diego. pp. 451-462
- Richards, R.A., 1995: *Defining criteria to improve yield under drought*. Proc. of the Int. Congress on Integrated Studies on Drought Tolerance of Higher Plants: Interdrought 95.
- Robert, N., J.B. Denis, 1996: Stability of baking quality in bread wheat using several statistical parameters. *Theor. Appl. Genet.* **32**, 87-89.
- Robinson, F.E., D.W. Cudney, W.F. Lehman, 1979: Nitrate fertilizer timing, irrigation, protein and yellow berry in durum wheat. *Agron. J.* **71**, 304-608.
- Rojo, G., L.F. García del Moral, 1986: Fisiología de la producción de grano y de proteínas en cultivos de trigo blando (*Triticum aestivum* L.), trigo duro (*T. turgidum* L.) y triticale ( $\times$  *Triticosecale* Wittmack). *An. Edaf. Agrobiol.* **45**: 1597-1614.
- Romagosa, I., J.L. Araus, 1991a: La mejora genética vegetal para zonas con déficits hídricos. *Rev. Real Acad. Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* **85**, 349-366.
- Romagosa, I., J.L. Araus, 1991b: Genotype-environment interaction for grain yield and  $^{13}\text{C}$  discrimination in barley. *Barley Genetics* **VI**, 563-567.
- Romagosa, I., P.N. Fox, L.F. García del Moral, J.M. Ramos, B. García del Moral, F. Roca de Togores, J.L. Molina-Cano, 1993: Integration of statistical and

- physiological analyses of adaptation of near-isogenic barley lines. *Theor. Appl. Genet.* **86**, 822-826.
- Royo, C., A. Rodriguez, I. Romagosa, 1993: Differential adaptation of complete and substituted triticale. *Plant Breeding* **111**, 113-119.
- Royo, C.; A. Michelena, J.M. Carrillo, P. García, J. Juan-Aracil, C. Soler, 1998. Spanish durum wheat breeding programme. In: M.M. Nachit, M. Baum, E. Porceddu, P. Monneveux, E. Picard (eds), SEWANA (South Europe, West Asia & North Africa) Durum Research Network. Proceedings of the SEWANA Durum Network Workshop, 20-23 March 1995. pp. 80-87. ICARDA, Aleppo, Syria.
- Royo, C., M. Abaza, R. Blanco, L.F. García del Moral, 2000: Triticale grain growth and morphometry as affected by drought stress, late sowing, and simulated drought stress. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**, 1051-1059.
- Royo, C., D. Villegas, L. F. García del Moral, S. El Hani, N. Aparicio, Y. Rharrabti, J. L. Araus. 2001. Comparative performance of carbon isotope discrimination and canopy temperature depression as predictors of genotype differences in durum wheat yield in Spain. *Aust. J. Agric. Res.*, (bajo revisión).
- Russell, G., R.P. Ellis, 1988: The relationships between leaf canopy development and yield of barley. *Ann. App. Biol.* **113**, 357-374.
- Sarrafi, A., R. Ecochard, P. Grignac, 1989: Genetic variability for some grain quality characters in tetraploid wheats. *Plant Var. Seeds* **2**, 163-169.
- Sarrafi, A.; A. Mentewab, P. Monneveux, 1993: Variabilité génétique de la fluorescence chlorophyllienne chez des haploïdes doubles d'orge et son utilisation dans la sélection pour la résistance au stress hydrique. In: P. Monneveux, M Ben Salem (eds.). *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne*. pp. 397-402, Ed. INRA, Les Colloques n° 64, Paris.

- SAS Institute Inc., 1997: SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12. Cary, NC.
- Sayed, H.I., A.M. Gadallah, 1983: Variation in dry matter and grain filling characteristics in wheat cultivars. *Field Crops Res.* **7**, 61-71.
- Schreiber, U., W. Bilger, 1987: Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. In: J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange y W.D. Oechel (eds.). *Plants Response to Stress*. pp. 27-53, Springer, Berlin.
- Schreiber, U., W. Bilger, C. Neubauer, 1995: Chlorophyll fluorescence as a non intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: E.D. Schulze y M. M. Caldwell (eds.). *Ecophysiology of photosynthesis*. pp. 49-70 Springer, Berlin.
- Sharkey, Th. H., 1993: Fotosíntesis. Metabolismo del carbono en cloroplastos de plantas C<sub>3</sub>. In: J. Azcón-Bieto M. Talón (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. pp. 113-133. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- Shepherd, K.D., P.J.M. Cooper, A.Y. Allan, D.S.H. Drennan, J.D.H. Keatinge, 1987: Growth, water use and yield of barley in Mediterranean-type environments. *J. agric. Sci.* **108**, 365-378.
- Shukla, G.K., 1972: Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* **29**, 237-245.
- Siddique, K.H.M., R.K. Belford, M.W. Perry, D. Tennant, 1989: Growth, development and light interception of old and modern wheat cultivars in a Mediterranean environment. *Aust. J. Agric. Res.* **40**, 473-487.

- Simmons, S.R., R.K. Crookson, 1979: Rate and duration of growth of kernels formed at specific florets in spikelets of spring wheat. *Crop Sci.* **19**, 690-693.
- Simmons, S.R., 1987: Growth, development and physiology. In: *Wheat and Wheat improvement*. E.G. Heyne (ed), American Society of Agronomy, **13**: 77-105, Madison, Wisconsin.
- Simmonds, N.W., 1995: The relation between yield and protein in cereal grain. *J. Sci. Food Agric.* **67**, 309-315.
- Slafer, G., F.H. Andrade, 1991: Changes in physiological attributes of the dry matter economy of bread wheat (*Triticum aestivum*) through genetic improvement of grain yield potential at different regions of the world. A review. *Euphytica* **58**, 37-49.
- Slafer, G.A., H.M. Rawson, 1994: Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: A re-examination of some assumptions made by physiologists and modellers. *Aust. J. Plant Physiol.*, **21**: 393-426.
- Snyder, R.L., y W.O. Pruitt, 1991: ETO, Version 1.04. Davis, CA: Department of land, air and water resources, University of California.
- Sofield, I., L.T. Evans, M.G. Cook, I.F. Wardlaw, 1977a: Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **4**, 785-797.
- Sofield, I., I.F. Wardlaw, L.T. Evans, S.Y. Zee, 1977b: Nitrogen, phosphorus and water contents during grain development and maturation in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* **4**, 799-810.
- Steel, R.G.D., J.H. Torrie, 1982: *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. McGraw-Hill Int. Book Co., Tokyo, Japan.

- Stoddart, F.L., D.R. Marshall, 1990: Variability in grain protein in Australian hexaploid wheats. *Aust. J. Agric. Res.* **41**, 277-288.
- Stoy, V., 1979: The storage and re-mobilization of carbohydrates in cereals. In: J.H.J. Spiertz, T.H. Kramer (eds), *Crop Physiology and Cereal Breeding*, 55-59. Wageningen.
- Tewari, S.N., 1976: Path-coefficient analysis for grain yield and its components in a collection of barley germplasm. In: H. Gaul (ed) *Barley Genetics III. Proc. Int. Barley Genet. Symp.*, 3<sup>rd</sup>, Munich, 7-12 July 1975. pp: 686-700. Verlag Karl Thieming, Munich.
- Thorne, G.N., 1966: Physiological aspects of grain yield in cereals. In: F.L. Milthorpe, J.D. Ivins (eds.). *The Growth of Cereals and Grasses*. pp. 88-105. Butterworths, London.
- Thorne, G.N., 1974: Physiology of grain yield of wheat and barley. *Rothamsted Exp. Stn. Report 2*: 5-25.
- Turner, N.C. y M.E. Nicolas, 1987: Drought resistance of wheat for light-textured soils in a Mediterranean climate. in: J.P. Srivastava, E. Porceddu, E. Acevedo, S. Varma, (eds.). *Drought Tolerance in Winter Cereals*. pp. 203-216. John Wiley, New York, NY.
- Uhlen, K.A., R. Hafskjold, A.H. Kalhovd, S. Sahlström, Å. Longva, E.M. Magnus, 1998: Effects of cultivars and temperature during grain filling on wheat protein content, composition, and dough mixing properties. *Cereal Chem.* **75**, 460-465.
- Verdugo, J.M, 1989: La calidad de los trigos. Hojas divulgadoras nº 2/89 HD. M.A.P.A.

- Villegas, D., 2000: Crecimiento y productividad del trigo duro en ambiente mediterráneo: identificación de criterios morfofisiológicos útiles para la selección. Tesis doctoral. Universidad de Lleida. 138 páginas.
- Voltas, J., I. Romagosa, A. Lafarga, A.P. Armesto, A. Sombrero, J.L. Araus, 1999: Genotype by environment interaction for grain yield and carbon isotope discrimination of barley in Mediterranean environment. *Aus. J. Agric. Res.* **50**, 1263-1271.
- Voltas, J., F. van Eeuwijk, E. Igartua, L.F. García del Moral, J.L. Molina-Cano, I. Romagosa, 2000: Genotype by environment interaction and adaptation in barley breeding: basic concepts and methods of analysis. In: *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality*. Special Issue of the *Journal of Crop Production* (en prensa).
- Wardlaw, I.F., I.A. Dawson, P. Munibi, R. Fewster, 1989: The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth. I. Survey procedures and general response patterns. *Aust. J. Agric. Res.* **40**, 1-13.
- Watson, D.J., 1947: Comparative physiological studies on the growth of field crops. I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. *Ann. Bot.* **11**, 41-76.
- Watson, D.J., G.N. Thorne, S:A:W French, 1963: Análisis of growth and yield of winter and spring wheat. *Ann. Bot.* **27**, 1-22.
- Weber, W.E., G. Wricke, T. Westerman, 1996: Selection of genotypes and prediction of performance by analysing genotype-by-environment interactions. In: M.S. Kang, H.G. Gauch (Eds), *Genotype by Environment Interaction*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 85-120.

- Weigand, C.L., J.A. Cuellar, 1980: Duration of grain filling and kernel weight of wheat as affected by temperature. *Crop Sci.* **21**:95-101.
- Williams, P., F.J. El-Haramein, H. Nakkoul, S. Rihawi, 1988: *Crop Quality Evaluation: Methods and Guidelines*. ICARDA (ed.).
- Wricke, G., 1962: Über eine methode zur erfassung der ökologischen streubreite in feldversuchen. *Z. Pflanzenzüchtg* **47**, 92-96.
- Wright, S., 1921: Correlation and causation. *J. Agric. Res.* **20**, 557-585.
- Wright, S., 1923: The theory of path coefficients. A reply to Nile's criticism. *Genetics* **8**, 239-255
- Yañez, J.A., 1997: Contribución al estudio del desarrollo apical, llenado del grano y productividad en triticale. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 133 páginas.
- Yates, F., W.G. Cochran, 1938: The analysis of groups of experiments. *J. Agr. Sci.* **28**, 556-580.
- Yau, S.K., 1991: The need of scale transformation in cluster analysis of genotypes based on multi-location yield data. *J. Genet. Breed.* **45**, 71-76.
- Zadoks, J.C., T.T. Chang, C.F. Konzak, 1974: A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.*, **14**: 415-421.
- Zobel, R.W., M.J. Wright, H.G. Gauch, 1988: Statistical analysis of yield trial. *Agron. J.* **80**, ~~388~~ 393.