

Rev. FCA UNCUIYO. 2015. 47(1): 43-58. ISSN impreso 0370-4661. ISSN (en línea) 1853-8665.

Variables de tamaño y forma de granos y embriones de trigo (*Triticum aestivum* L.): análisis y propuestas

Size and shape variables of wheat grains and embryos: analyses and suggestions

Vilma Teresa Manfreda, María Cecilia Acosta

Originales: *Recepción*: 19/02/2014 - *Aceptación*: 22/12/2014

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo fueron identificar, de un conjunto de variables de tamaño y forma de granos y embriones de trigo, unas de medición directa o primarias (VP) y otras derivadas de ellas o secundarias (VS), las más adecuadas para describir estos dos aspectos, las equivalentes o redundantes, y mejorar o proponer nuevas variables. Se estudiaron un amplio rango de tamaño de granos de dos cultivares de trigo con formas visualmente distintas, producidos en parcelas experimentales a campo en tres años. Del Análisis de Componentes Principales se obtuvo un primer eje (67,77% de la varianza) al que se asociaron VP y VS del tamaño de granos y de embriones, mientras que al segundo (16,73% de la varianza) las VS de formas. Algunas variables, como Largo de embriones y Factor forma-densidad, presentaron asociaciones mixtas o inesperadas. Se propone un Factor forma-densidad modificado (Ffdm) de reducida cantidad de correlaciones significativas con las VP de tamaño. Se proponen, además, dos nuevas variables, una que evalúa la forma de los granos (Desf AN) y otra el tamaño relativo entre embrión y grano (*Le/Lg*). Ambas se diferenciaron entre cultivares, no fueron afectadas por el año de producción y presentaron pocas correlaciones significativas con las VP.

Palabras clave

Triticum aestivum • tamaño de embriones • forma de embriones • tamaño de granos • forma de granos

Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, República de Italia 780, Azul, Provincia de Buenos Aires, Argentina. C. C. 96, (7300) Azul, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
vmanfred@faa.unicen.edu.ar

ABSTRACT

The aims of this work were to discriminate among a group of variables of size and shape of wheat grains and embryos, some of direct measurement or primary variables (VP) and others derived from them or secondary variables (VS), those which were most adequate to describe these two characteristics, those equivalent or redundant, and to improve or propose new variables. Grains of a wide size range of two wheat cultivars, which visually differ in shape, were studied. The grains were produced in a three-year field experiment. The first axis (67.77% of the variance) obtained by Principal Component Analysis was associated with VP and VS of both grain and embryo size, while second axis (16.73% of the variance) was associated with VS of shape. Some variables, such as embryos Length and Form-density factor, presented mixed or unexpected associations. It is suggested a modified Form-density factor (Ffdm) which showed a low number of significant correlations with size VP. Also, it was possible to propose two new variables: one that evaluates the shape of grains (Desf AN) and the other, the relative embryo-grain size (Le/Lg). Both variables could differentiate between cultivars, were not affected by production year, and showed few significant correlations with VP.

Keywords

Triticum aestivum • embryo size • embryo shape • grain size • grain shape

INTRODUCCIÓN

Existe una gran cantidad de medidas desarrolladas para evaluar el tamaño y la forma de los granos tanto de trigo (*Triticum aestivum* L.) como el de otros cereales. Estas medidas son básicas y aplicables a múltiples ámbitos, que van desde los referidos a la selección y al mejoramiento de cultivares, hasta las distintas etapas de la llamada "cadena de granos" (producción, transporte, almacenamiento, elaboración, consumo). Junto con otros atributos, como el brotado pre-cosecha, componen el síndrome de domesticación en cereales (9) y permiten analizar los cambios ocurridos a través de miles de años por la domesticación. A diferencia del arroz, que ha sufrido una fuerte selección por forma y tamaño (13), la selección en el trigo ha operado principalmente sobre el tamaño de los granos (10). Aún así, se informa que en los trigos

actuales existe un empobrecimiento en la variabilidad de las formas (10). Esta última afirmación está basada en las diferencias en la proporción entre el largo y ancho de los granos, que en los trigos modernos son, además de más pesados, más cortos y anchos que los de las especies antecesoras. En estos trabajos (9, 10, 13) la cantidad de variables de forma y tamaño utilizadas, se limitan a las unidimensionales del grano (largo, ancho y peso) y a un reducido número de sus combinaciones. Por otro lado, no informan con respecto a los embriones, por lo que se desconoce si en la domesticación estos sufrieron una co-selección.

El primer eslabón de la cadena de granos, la producción, involucra tanto a la siembra como a la cosecha de granos. Es ampliamente aceptado que el uso de granos más grandes, de mayor vigor, aporta al éxito en la implantación

del cultivo, ya sea que el tamaño sea establecido según su peso (3, 18) o mediante el uso de tamices (1, 4), este último más relacionado con el diámetro de los granos. Estas medidas de tamaño son de equivalencia cuestionables, ya que el peso de grano de una determinada fracción de semillas obtenida por tamices, puede diferir no sólo entre cultivares sino también por las condiciones ambientales de producción (21). Con el aumento del tamaño de los granos, se ha observado que también aumenta el de los embriones, y a ambos componentes se le atribuye un rol importante en el vigor de las plántulas (1, 3, 15, 18). A pesar de lo antedicho, no hay mucha información publicada sobre la relación entre embriones y granos en trigo, aunque se conoce que la misma varía según genotipos y según las variables de tamaño utilizadas (15, 18). El desarrollo y el conocimiento de las relaciones entre las distintas variables de granos y embriones podrían ser de utilidad en la identificación de las variables más asociadas con el vigor.

Tanto el tamaño como la forma de los granos impactan económicamente también en otros eslabones de la cadena de granos, como en la comercialización, a través de su influencia en el peso hectolítrico (12) y en la molienda, co-determinando el rendimiento harinero (6, 8, 12, 20). Otro ámbito de aplicación de las variables de forma y tamaño puede definirse en los laboratorios de calidad de semillas y granos, los cuales necesitan de medidas de tamaño y forma para estandarizar pruebas, tales como la de conductibilidad eléctrica y de velocidad de germinación, para estimar el deterioro y vigor de lotes de semillas (16).

Algunas variables que son relaciones entre medidas de tamaño de granos pueden informar tanto sobre el tamaño, como de la forma y de otros atributos

diferentes, como es el caso de la densidad. Tanto la densidad como las variables de forma deberían ser, al menos en teoría, independientes de las variables a partir de las cuales se calculan. Tal es el caso del Factor forma-densidad propuesto por Giura y Saulescu (1996) que fue utilizado en otras investigaciones (7, 10), factor sobre el cual no se dispone de información respecto de sus aptitudes.

Por otro lado, existe una inevitable variabilidad natural de forma y tamaño de los granos que se evidencia entre y dentro de las espigas y espiguillas, en relación con su posición (14, 17, 19). Aumentando la escala de análisis, también se debe considerar a la genética del cultivar, al ambiente de producción y la interacción entre ambos como factores que aportan a la variabilidad encontrada entre lotes de semillas. La variabilidad originada en la interacción genotipo-ambiente y la aportada por la posición de los granos, adquieren una importancia particular cuando se quieren relacionar atributos (como el tamaño y la forma) con información genética, tal como lo hicieron Gegas *et al.* (2010), Giura y Saulescu (1996), Dholakia *et al.* (2003), Yücel *et al.* (2009) y Tsilo *et al.* (2010). En este sentido, hay evidencias firmes en cuanto a que el largo y ancho de los granos son características heredables y que son genéticamente independientes (2, 5).

Otros atributos, como un factor de forma y otro de densidad utilizados por Bergman *et al.* (2005), presentan una escasa heredabilidad y por tanto sugieren la necesidad de que sean re-analizados en cuanto a su significancia.

Ante la complejidad expuesta sobre las variables disponibles de tamaño y forma de granos y de embriones de trigo, este trabajo se focalizó en el análisis de variables primarias y secundarias

(derivadas de la combinación de las anteriores) con el objetivo de: a) determinar cuáles evalúan más apropiadamente la forma y cuáles lo hacen con el tamaño, b) identificar cuáles son redundantes o equivalentes, y c) modificar o formular nuevas variables que presenten ventajas a las existentes. Para ello se utilizaron granos que abarcaron una amplia gama de tamaños y dos cultivares de trigo de formas visiblemente diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron granos de dos cultivares de trigo: Charrúa INTA (granos alargados) y Baguette 10 (granos redondeados). Los granos analizados fueron obtenidos en tres años consecutivos en un ensayo experimental (tres parcelas en el 2006 y en el 2007, y cuatro en el 2008) en la chacra experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (Azul, provincia de Buenos Aires, Argentina). Las condiciones de producción de los granos se llevaron a cabo sin restricciones de agua ni de nutrientes minerales. La cosecha se realizó a mano y en la trilla se realizó cuidadosamente evitando la rotura y pérdida de granos.

De cada cultivar, año y parcela se obtuvieron muestras que consistieron en 10 granos seleccionados bajo el criterio de cubrir el rango más amplio de tamaño. Se excluyeron aquellos granos que presentaron defectos como asimetrías y arrugas. Con lupa se tomaron fotos de vista dorsal y lateral de cada grano bajo un fondo milimetrado. Luego los granos fueron pesados con balanza analítica (precisión 0,1 mg) y su peso (Pg) registrado individualmente. Mediante el programa ENVI 4.4 (Exelis Visual Information Solutions, Boulder, Colorado) se extrajo de

las fotos dorsales las medidas de largo (L), ancho (AN) y área (AR) del grano y del embrión (indicados por las letras g y e respectivamente en minúscula cursiva). El área se midió ajustando a una elipse con una herramienta *ad-hoc* del programa mencionado. De la foto lateral se obtuvo el alto del grano (ALg).

A partir de estas medidas (variables primarias, VP) se calcularon otras (variables secundarias, VS) que incluyeron: cocientes y multiplicaciones entre estas medidas directas (tabla 1, pág. 47), esfericidad (Esf), diámetro equivalente (Deq), Factor forma-densidad (Ffd) y volumen del elipsoide ($V.elipsoide$), calculadas con las siguientes fórmulas:

$$Esf = 100 * Deq / Lg$$

$$Deq = \sqrt[3]{Lg * ANg * ALg}$$

$$Ffd = Pg / (Lg * ANg)$$

$$V.elipsoide = 4 / 3 * \pi * Lg * ANg * ALg$$

A fin de definir los conjuntos de variables asociadas con la forma y/o con el tamaño se realizó un primer análisis exploratorio mediante Análisis de Componentes Principales (ACP). Debido a que el número de variables fue moderado (20 en total), se pudieron inspeccionar los gráficos de cada una de las variables en relación con el peso del grano (asumiéndola como variable descriptora clave del tamaño de grano) a fin de observar la linealidad en la relación y por ende la conveniencia de transformar alguna variable para al análisis, acción que no fue necesario realizar.

Posteriormente, se utilizaron correlaciones simples y pruebas de homogeneidad de pendientes para analizar las relaciones entre variables seleccionadas. El estudio de la aptitud de las variables para describir un determinado atributo

Tabla 1. Cargas de las variables primarias y secundarias de granos y embriones sobre los primeros tres ejes obtenidos por el Análisis de Componentes Principales (CP 1, 2 y 3) con el porcentaje de la varianza explicada por cada uno de ellos entre paréntesis. Las cargas de mayor valor en cada CP se presentan resaltadas y la clasificación como variable de forma (f) y/o tamaño (s) se indica entre paréntesis.

Table 1. Loadings of primary and secondary variables of grains and embryos by the tree main axis obtained by Principal Component Analysis (CP 1, 2, and 3) with the percentage of variance explained by each CP shown in parentheses. The higher loading values are highlighted in bold. The type of variable (s=size and f=shape) is shown between parentheses.

Clasificación <i>a priori</i> de variables	Variables	Clasificación	CP 1 (67,73)	CP 2 (16,77)	CP 3 (6,97)
VARIABLES PRIMARIAS DE TAMAÑO DE GRANO	Pg	(s)	0,959	-0,158	0,049
	Lg	(s)	0,910	0,308	0,004
	ANg	(s)	0,866	-0,395	0,282
	ALg	(s)	0,940	-0,068	-0,279
	ARg	(s)	0,957	-0,102	0,107
VARIABLES PRIMARIAS DE TAMAÑO DE EMBRIÓN	Le	(s-f)	0,676	0,621	0,278
	ANe	(s)	0,899	0,093	-0,108
	ARe	(s)	0,794	0,431	0,203
VARIABLES SECUNDARIAS DE TAMAÑO DE GRANOS	Deq	(s)	0,989	-0,073	-0,021
	Esf	(s)	0,380	-0,803	-0,068
	ANG/Lg	(s)	0,114	-0,889	0,362
	ANG*Lg	(s)	0,963	-0,068	0,175
	ALg/ANg	(s-f)	0,375	0,388	-0,789
	ALg*ANg	(s)	0,963	-0,228	-0,029
	ALg*Lg	(s)	0,972	0,104	-0,166
	Ffd	(s)	0,783	-0,277	-0,140
	V. elipsoide	(s)	0,985	-0,061	-0,013
	Area _g	(s)	0,989	0,021	-0,002
VARIABLES SECUNDARIAS DE TAMAÑO DE EMBRIÓN	ANe/Le	(f)	0,077	-0,744	-0,489
	ANe*Le	(s)	0,836	0,431	0,117

Abreviaturas: P = peso; L = largo; AN = ancho; AL = alto; AR = área de la elipse para el grano (g) o el embrión (e); Deq = diámetro equivalente; Esf = esfericidad; Ffd = Factor forma-densidad; V. elipsoide = volumen; Área = área del elipsoide.

Abbreviations: P = weight, L = length, AN = width, AL = high, AR = area of the ellipse for the grain (g) or embryo (e); Deq = equivalent diameter, Esf = sphericity, Ffd = Form-density factor, V. elipsoide = ellipsoid volume; Area = ellipsoid area.

se completó mediante ANOVA en los que se evaluó el efecto del cultivar, año y su interacción, mientras que los niveles se contrastaron con las pruebas de Scheffé.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del conjunto de variables por Componentes Principales

Este análisis exploratorio produjo un primer eje o componente (CP1) que recogió una importante parte de la variabilidad de los granos de los dos cultivares de los tres años de producción (67,73% de la varianza total; tabla 1, pág. 47). Al CP1 se asociaron fuertemente todas las variables primarias de tamaño de granos y de embrión y una cantidad notable de variables derivadas surgidas de multiplicaciones entre las anteriores. El CP1 resumió en una dimensión el tamaño del grano y del embrión en forma conjunta. El segundo eje generado (CP2) explicó el 16,77% de la varianza, y las cuatro variables más asociadas al mismo fueron (ordenadas según su carga): ANg/Lg , $Esf.$, ANe/Le y Le (tabla 1, pág. 47). De este último resultado se destacaron dos hechos. El primero fue que el CP2 se correlacionó con variables que son o involucran cocientes entre medidas unidimensionales, siendo las proporciones medidas más propicias para evaluar formas que tamaños.

El otro hecho fue que el largo del embrión fue la excepción a la anterior observación y que su carga sobre cada uno de los dos primeros ejes fue similar. Se puede interpretar que esta dimensión explica predominantemente formas, tanto de granos como de embriones. El tercer eje (CP3) explicó un 6,97% de la varianza (tabla 1, pág. 47). Se destacó la predominante asociación con ALg/ANg , variable que mostró, en comparación con

las otras, bajas cargas en los dos primeros ejes. Le siguieron las proporciones entre el ancho y largo de los embriones y de los granos (ANe/Le y ANg/Lg respectivamente). Estas dos últimas proporciones, que contribuyeron al CP2 con igual signo, en el CP3 se separaron (signos contrarios).

Siguiendo los criterios usados con los dos primeros componentes, el CP3, al igual que el CP2, describió la forma de los granos y de los embriones, aunque en un aspecto menos importante para este conjunto de datos ya que este eje explicó menos de la mitad de la variabilidad que el CP2.

La agrupación ortogonal de variables en los dos primeros ejes concuerdan en líneas generales con la independencia propuesta entre estos atributos para los granos de trigo observada también mediante ACP por Gegas *et al.* (2010).

Un análisis más profundo permitió destacar algunas particularidades más. En primer lugar, es de notar que, en particular, las variables peso, alto y área de grano y algunas de sus derivadas ($ALg*Lg$, $ALg*ANg$, $ANg*Lg$, Deq , $V.elipsoide$ y $Area_g$) presentaron gran carga sobre el primer eje y muy baja sobre el segundo (tabla 1, pág. 47). Como consecuencia, estas variables se presentan como las más apropiadas para describir de manera "pura" el tamaño de los granos y tienen una idoneidad similar para hacerlo. Nótese que en este grupo se incluyen el Deq y $V.elipsoide$, que podrían ser tomadas erróneamente como variables de forma dado que sus nombres apelan a figuras geométricas. Acompañó claramente a este conjunto de variables el ancho del embrión (ANe), indicando cambios en el mismo que acompañan estrechamente al tamaño del grano y, por otro lado, no se asoció ni con el segundo ni con el tercer

componente. Esto marca diferencias con el largo del embrión (L_e) que se asoció con altas cargas con los dos primeros componentes, indicando la naturaleza mixta de esta variable.

Entre las mediciones derivadas, el Factor de forma-densidad (Ffd) presentó alta carga en el primer componente, indicando variaciones con el tamaño del grano, hecho que se contrapone tanto al concepto de densidad como de forma. Al respecto, los resultados de Gegas *et al.* (2010) también muestran que esta variable está asociada más al tamaño que a la forma de los granos de trigo y, aunque los autores no profundizan en ello, esta coincidencia de resultados indica la necesidad de revisar el significado de esta variable.

Por su parte, la esfericidad (Esf.) también mostró una asociación débil con el tamaño (carga de 0,38 sobre el CP1), asociación no deseada para caracterizar cultivares o genotipos.

Ampliando lo expuesto, si una medida de forma se relaciona con el tamaño de grano podría deberse a que, o bien no es una medida adecuada para evaluar la forma o, alternativamente, que la forma no es una constante y que se modifica con el tamaño de grano, aún dentro de un mismo genotipo. Las soluciones a estas dos alternativas consisten, en el primer caso, en formular una variable más acertada al propósito, mientras que para el segundo habría que asumir esa dinámica entre forma y tamaño estableciendo, de ser posible, los límites de validez de uso de la variable o aplicarle alguna corrección.

Estos resultados reorientaron a este trabajo en cuanto a:

- Analizar las variables descriptoras de la forma de granos en cuanto a su independencia con el tamaño y a su capacidad para distinguir cultivares. Buscar

medidas alternativas a la esfericidad y a la proporción entre el ancho y el largo para cuantificar la forma de los granos.

- Analizar las variables de tamaño y forma de los embriones y sus relaciones con las variables de forma y tamaño del grano.

- Analizar otras variables derivadas, en particular el Factor forma-densidad, en cuanto a su significado y asociación con las variables de tamaño y de forma del grano.

A fines prácticos, en algunos casos se tomó al peso de los granos como variable representativa del tamaño, ya que fue una variable medida independientemente de las otras variables primarias.

1. Variables descriptoras de la forma de granos

Si bien analíticamente las formas geométricas son independientes del tamaño del objeto, cuando se analizaron la Esf. y el ANG/Lg para los dos cultivares por separado, se observaron varias relaciones significativas con variables primarias de tamaño (tabla 2, pág. 50). Esta falta de independencia es compatible con un "redondeo" del grano cuando el mismo está más próximo a alcanzar su tamaño potencial y por tanto es de esperar una alta correlación positiva con el ancho de los granos, tal como muestran estos resultados (tabla 2, pág. 50).

Considerando la posibilidad de que estas variables no sean las más adecuadas para describir la forma de los granos, se construyeron variables alternativas en las que se combinaron el ancho, el alto y el largo del grano. Entre éstas se cuantificó la desviación a una esfera, basándose en la propiedad de presentar en el espacio tres ejes iguales. Para ello se calculó para cada uno de los ejes del grano (alto, ancho y largo del grano) su diferencia con los otros dos ejes; estas diferencias se sumaron y

dividieron por el eje de referencia. De esta forma se obtuvieron tres nuevas variables, cada una de ellas correspondiente a un eje de referencia diferente, que se denomina desviación a la esfericidad según largo, ancho o alto (Desf L; Desf AN y Desf AL respectivamente).

Se pudo comprobar que el Desf AN superó a todas las medidas de forma de

granos ya que sólo se asoció con el ancho del grano (tabla 2).

Por otro lado, el análisis de la varianza y los contrastes entre las medias mostraron que el Desf AN también separó exitosamente a los dos cultivares sin efecto de año de producción, mejor de lo que lo hicieron la esfericidad y la proporción ancho-largo de grano (tabla 3, pág. 51).

Tabla 2. Coeficientes de correlación de Pearson (r) para los pares de variables primarias de tamaño (nombres en primera columna) y de variables de forma de los granos (nombre en primera fila). El análisis se realizó por separado para Charrúa INTA (Ch.I) y Baguette 10 (B10).

Table 2. Pearson correlation coefficients (r) between primary size variables (names in first column) and secondary variables of grain shape (names in first row). The analysis was done separately for Charrua INTA (Ch.I) and Baguette 10 (B10) cultivars.

Variables	Esf.		ANg/Lg		Desf L		Desf AN		Desf AL	
	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10
Pg	0,47	0,47	0,31	0,34	0,50	0,43	-0,18	-0,20	-0,55	-0,39
Lg	0,14	0,11	-0,04	-0,08	0,14	0,04	0,15	0,15	-0,40	-0,19
ANg	0,66	0,57	0,61	0,55	0,67	0,55	-0,51	-0,44	-0,43	-0,34
ALg	0,49	0,64	0,20	0,30	0,57	0,62	-0,01	0,01	-0,79	-0,76
ARg	0,41	0,37	0,29	0,25	0,43	0,34	-0,18	-0,13	-0,45	-0,33
Le	0,19	-0,02	0,06	-0,02	0,11	-0,07	0,01	-0,02	-0,25	0,06
ANe	0,40	0,47	0,24	0,27	0,45	0,44	-0,01	-0,09	-0,57	-0,47
ARe	0,31	0,17	0,20	0,10	0,30	0,11	-0,12	-0,07	-0,36	-0,12

Abreviaturas: Desf L; Desf AN; Desf AL = desvío a la esfericidad según largo, ancho y alto respectivamente; resto de abreviaturas empleadas igual que para la tabla 1 (pág. 47).

Los valores de r resaltados indican asociaciones significativas ($\alpha \leq 0,05$; $n = 100$).

Abbreviations: Desf L; Desf AN; Desf AL = sphericity deviation by length, width, and high respectively.

Other abbreviations are the same as in table 1 (page 47).

Significant r -values ($\alpha \leq 0.05$; $n = 100$) are indicated in bold.

Tabla 3. Cuadros Medios obtenidos por Análisis de la Varianza para las variables de forma de granos (Esf., ANG Lg y Desf AN), forma del embrión (ANE/Le y (ANE-Le)/ARE), para las relaciones entre embrión y grano (Le/Pg y Le/Lg) y de los factores de forma-densidad (Ffd y Ffdm) con los factores cultivar (Cv) y año de producción (Año) y su interacción. En la mitad inferior de la tabla se presentan los promedios para cada cultivar y año de producción.

Table 3. Mean Squares obtained by ANOVA for variables of grain-shape (Esf., ANG/Lg, and Desf AN), for embryo-shape (ANE Le and (ANE-Le)/ARE), for embryo-grain size (Le/Pg and Le/Lg) and for form-density factors (Ffd and Ffdm) by cultivar (Cv) and year (Año) factors and its interaction. The low half-table shows mean values for each cultivar and year.

Variable	Df	Esf.	ANG/Lg	Desf AN	Le/Pg (mm.g ⁻¹)	Le/Lg	ANE/Le	(ANE-Le)/ARE (mm ⁻¹)	Ffd (g.mm ⁻²)	Ffd m (g.mm ⁻³)
Intercepción	1	632185 ***	39,48 ***	270 ***	0,8506 ***	18,19 ***	89,23 ***	21,44 ***	598,50 ***	87,3079 ***
Cv.	1	219 ***	0,114 ***	5,94 ***	0,0098 ***	0,118 ***	0,332 ***	0,202 ***	0,0209	0,1874 ***
Año	2	138 ***	0,009 **	0,153	0,0035 **	0,0003	0,044 *	0,174***	0,3887 *	0,0353 *
Cv*Año	2	25	0,004	0,101	0,00005	0,0008	0,002	0,008	0,0042	0,0007
Error	194	9	0,001	0,067	0,00058	0,001	0,011	0,015	0,0871	0,0006
Promedios										
	Año 1	55,98 a	0,431 abc	1,29 a	0,075 b	0,330 a	0,615 a	0,399 b	1,702 a	0,623 a
	Año 2	56,64 a	0,444 ab	1,36 a	0,063 ab	0,329 a	0,657 ab	0,317 ab	1,822 a	0,621 a
	Año 3	54,42 a	0,458 a	1,39 a	0,079 b	0,327 a	0,626 ab	0,374 b	1,682 a	0,665 ab
	Año 1	56,76 a	0,430 cd	1,01 b	0,061 ab	0,278 b	0,692 abc	0,357 b	1,704 a	0,691 b
	Año 2	60,01 b	0,426 d	0,92 b	0,051 a	0,275 b	0,751 c	0,249 a	1,850 a	0,682 ab
	Año 3	56,60 a	0,415 bc	1,06 b	0,063 ab	0,286 b	0,702 bc	0,313 ab	1,714 a	0,720 b

Abreviaturas: Df= Grados de libertad. Le/Lg = Largo Relativo; Ffdm = Factor forma-densidad modificado. Resto de abreviaturas igual que para tabla 1 (pág. 47) tabla 2 (pág. 50).

Niveles de significancia (* = $\alpha \leq 0,05$; ** = $\alpha \leq 0,001$ y *** = $\alpha \leq 0,0001$).

En cada columna, medias con letras iguales no son diferentes estadísticamente (Scheffé, $\alpha \leq 0,05$).

Abbreviations: Df= Degr. of Freedom. Le/Lg = Relative Length; Ffdm = modified Form-density factor. Other abbreviations are the same as in table 1 (page 47) and table 2 (page 50).

Significance level (* = $\alpha \leq 0,05$; ** = $\alpha \leq 0,001$; and *** = $\alpha \leq 0,0001$).

In each column, mean values with the same letter are not statistically different (Scheffé, $\alpha \leq 0,05$).

Tanto de la tabla 2 (pág. 50), como de la tabla 3 (pág. 51) se desprende que Desf AN es una variable altamente influida por el genotipo y escasamente afectada por el ambiente, lo que la hace particularmente valiosa para discriminar genotipos según forma de grano. Podría utilizarse, en consecuencia, como variable descriptora de forma de grano.

2. Variables de tamaño y forma de los embriones y su relación con el grano

- Variables del tamaño del embrión y del grano

El primer análisis se realizó con el peso de los granos mediante la prueba de homogeneidad de pendientes y se inspeccionaron el efecto del cultivar, del año y su interacción.

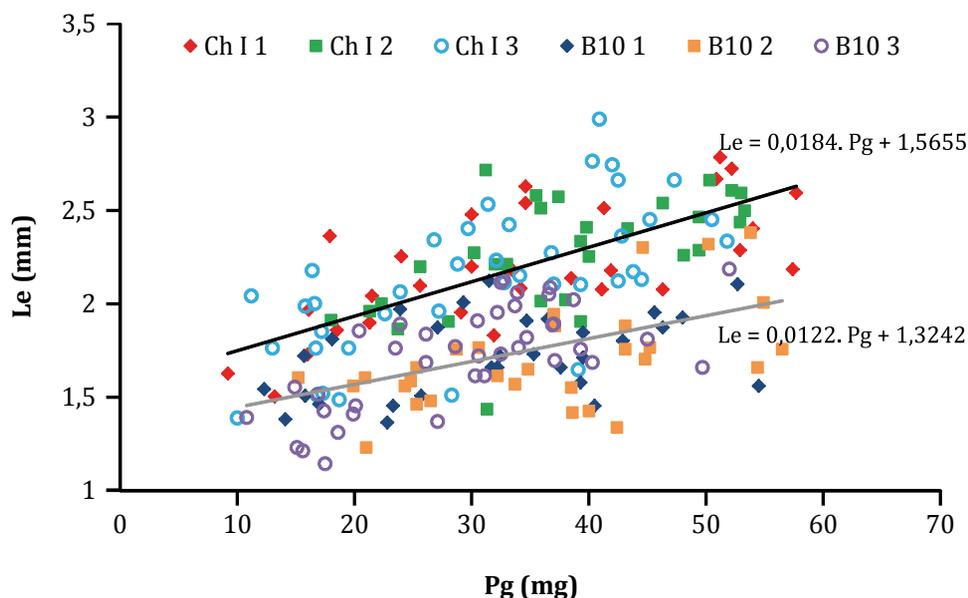


Figura 1. Relación entre el largo de los embriones (Le) y el peso de los granos (Pg). La línea y los símbolos rojo, verde y celeste corresponden al cultivar Charrúa INTA (Ch.I) y los símbolos azul, naranja y violeta a Baguette 10 (B10). Los años de producción son indicados con diferentes símbolos (1=2006, 2=2007 y 3=2008). En el lado derecho del gráfico se muestran las ecuaciones obtenidas para cada cultivar y sus coeficientes de determinación (R^2) ($n=100$, $\alpha \leq 10^{-5}$).

Figure 1. Relationship between embryo large (Le) and grain weight (Pg). Red, green and light blue line and symbols were used for Charrúa INTA (Ch.I) cultivar and blue, orange and violet for Baguette 10 (B10). The years of production are indicated by different symbols (1=2006, 2=2007, and 3=2008). Equations and determination coefficient (R^2) obtained for both lines are shown on the right side of the graphic ($n=100$, $\alpha \leq 10^{-5}$).

Entre el largo de los embriones y el peso de los granos sólo se detectó un efecto significativo del cultivar ($\alpha=0,05$; resultados no mostrados; figura 1, pág. 52).

Por otro lado, entre el ancho de los embriones y el peso de los granos fue significativo el año de producción y la interacción, en tanto que para el área de los embriones y el peso de los granos, sólo fue significativa la interacción ($\alpha=0,05$; resultados no presentados).

Esta disparidad en los factores que influyen la relación entre el tamaño del embrión y el del grano también fue encontrada por Mohsen *et al.* (2012).

Si bien ellos no observaron un efecto del genotipo de trigo sobre la relación entre el largo de los embriones y el peso de los granos (probablemente debido a que sus datos correspondieron a sólo tres categorías de tamaño de grano), sí pudieron observar que para algunos de los 10 genotipos estudiados, los pesos de los granos y de los embriones aumentaban conjuntamente, mientras que para otros el peso de los embriones permanecía constante entre algunas de las tres categorías de tamaño de grano. Esto evidencia una dinámica embrión-grano diferente según el genotipo y compatible con los resultados de este trabajo.

Ya que sólo la relación con el largo del embrión fue independiente del año de producción y de interacciones y pudo diferenciar a los cultivares, se analizó el cociente entre Largo de embrión y Peso de grano (Le/Pg), medida fácilmente obtenible desde un reducido número de granos.

Desafortunadamente para los propósitos buscados el Le/Pg no sólo resultó ser afectado por el cultivar, sino que también lo fue por el año de producción, y los contrastes no separaron adecuadamente a los cultivares (tabla 3, pág. 51).

El aumento en el número de factores y en la interacción entre ellos, presenta al Le/Pg como una medida poco efectiva para diferenciar cultivares con respecto a la correlación entre el Le y Pg .

La disparidad en la significancia de los factores sobre el cociente con respecto a la correlación entre el Le y el Pg , sólo puede ser explicada por la importante influencia que tuvo el valor de la ordenada al origen entre las dos variables primarias, sobre el cociente entre ellas (figura 1, pág. 52).

Manteniendo como propósito encontrar una medida del tamaño relativo del embrión al grano, se analizaron las correlaciones entre las variables primarias de tamaño con respecto a diferentes cocientes, destacándose tres: las relaciones entre el largo o el ancho del embrión con el largo del grano (Le/Lg y ANe/Lg respectivamente) y la proporción entre las áreas (ARE/ARg).

La primera de ellas, se denomina como Largo Relativo, mostró un número reducido de correlaciones significativas con el grupo de variables de tamaño de grano en ambos cultivares (tabla 4, pág. 54).

Por otro lado, el ANOVA arrojó para el Largo Relativo sólo efectos del cultivar, diferenciando la prueba de contraste claramente a los dos cultivares (tabla 3, pág. 51). Estos resultados muestran a este cociente como una variable con aptitudes para caracterizar y diferenciar, al menos, a estos dos cultivares.

Las otras dos variables, ANe/Lg y ARE/ARg , mostraron, además de patrones de asociaciones con las variables de tamaño contrastantes entre los cultivares analizados (tabla 4, pág. 54), efectos significativos del año de producción, y no pudieron detectar diferencias consistentes entre cultivares ($\alpha=0,05$; datos no mostrados).

Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre cada una de las variables primarias de tamaño (en primera columna) con las variables secundarias (nombres en primera fila) del tamaño embrión-grano (Le/Lg , ANe/Lg y ARE/ARG), de la forma del embrión (ANe/Le y $(ANe-Le)/ARE$) y de los Factores de forma-densidad (Ffd y $Ffdm$). El análisis fue realizado para cada cultivar por separado (Charrúa INTA= Ch.I y Baguette 10=B10).

Table 4. Pearson correlation coefficients (r) between primary size variables (names in first column) and secondary variables (names in first row) of embryo-grain size (Le/Lg , ANe/Lg , and ARE/ARG), of embryo shape (ANe/Le and $(ANe-Le)/ARE$) and Form-density factors (Ffd and $Ffdm$). The analysis was done separately for Charrúa INTA (Ch.I) and Baguette 10 (B10) cultivars.

Variables	Le/Lg		ANe/Lg		ARE/ARG		ANe/Le		(ANe-Le)/ARE		Ffd		Ffdm	
	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10	Ch.I	B10
Pg	0,05	-0,13	0,53	-0,01	0,04	-0,34	0,34	-0,11	-0,68	-0,31	0,88	0,89	0,08	-0,02
Lg	0,07	-0,12	0,27	-0,27	0,10	-0,26	0,13	-0,07	-0,52	-0,14	0,64	0,67	-0,21	-0,18
ANG	0,12	-0,07	0,55	0,05	0,01	0,31	0,32	0,11	-0,66	-0,28	0,67	0,78	-0,12	-0,11
ALg	0,01	-0,25	0,54	0,14	0,02	-0,37	0,38	0,30	-0,68	-0,44	0,78	0,82	0,20	-0,37
ARG	0,05	-0,15	0,46	-0,09	0,01	-0,35	0,30	0,07	-0,65	-0,29	0,74	0,80	-0,12	-0,13
Le	0,68	0,67	0,28	-0,15	0,54	0,39	0,33	-0,63	0,16	-0,33	0,48	0,40	-0,15	0,00
ANe	0,12	-0,06	0,75	0,49	0,17	-0,13	0,44	0,38	-0,76	-0,55	0,76	0,72	-0,08	-0,14
ARE	0,43	0,44	0,48	0,01	0,54	0,42	0,00	-0,35	-0,52	-0,07	0,65	0,52	-0,06	-0,02

Abreviaturas igual que para tabla 1 (pág. 47), tabla 2 (pág. 50) y tabla 3 (pág. 51).

Los valores de r de las asociaciones significativas ($\alpha \leq 0,05$; $n = 100$) se presentan resaltados en negrita.

Abbreviations are the same as in table 1 (page 47), table 2 (page 50) y table 3 (page 51).

Significant r -values ($\alpha \leq 0,05$; $n=100$) are indicated in bold.

Los resultados son compatibles con los mencionados anteriormente de Mohsen *et al.* (18) y destacan la particularidad de las relaciones entre el embrión y el grano en cada cultivar, hecho que podría ser de utilidad para la identificación de los mismos.

- Forma del embrión

Al contar con sólo tres medidas primarias, la evaluación de la forma del embrión se restringió a la proporción entre el ancho y el largo (A_{Ne}/L_e) y a la diferencia entre el ancho y el largo relativizada al área de la elipse que abarcaba al embrión ($(A_{Ne}-L_e)/A_{Re}$). Se supuso una independencia de la forma del embrión con respecto a su tamaño y con el del grano, por lo que se inspeccionaron estas relaciones para cada cultivar por separado. Se observó un menor número de correlaciones significativas para la proporción A_{Ne}/L_e que para $(A_{Ne}-L_e)/A_{Re}$ y para Baguette 10 que para Charrúa INTA (tabla 4, pág. 54). Nuevamente se expone una dinámica diferente entre cultivares: mientras en Baguette 10 los embriones crecen junto con los granos manteniendo la proporcionalidad entre el ancho y largo embrionario, en Charrúa aumenta relativamente más el ancho cambiando las proporciones del embrión y por tanto su forma. Si bien para las dos variables de forma propuestas fue altamente significativo el factor cultivar y no presentaron interacción con el año de producción, fueron afectadas por el año de producción, y los contrastes fallaron en diferenciar claramente a los dos cultivares (tabla 3, pág. 51). Estos resultados indican que difícilmente con estas medidas se pueda evaluar la forma del embrión, ya que no fueron constantes para cada genotipo.

- Otras variables derivadas

En el análisis por CP algunas de ellas ya han sido mencionadas como asociadas al tamaño, y que surgen de multiplicaciones entre variables primarias incluyendo aún aquellas que apelan a figuras geométricas. En este grupo se ubicó el diámetro equivalente (Deq), que calcula el radio de la esfera de igual volumen al del elipsoide (V. elipsoide) calculado por el ancho, largo y alto del grano. Es claro por su definición que ambas son medidas del tamaño del grano y no guardan relación con la forma de estos. Estas medidas presentan la ventaja de combinar y resumir en un sólo valor tres dimensiones de crecimiento, pudiendo suplantar al peso del grano en los casos en los que se asuma una constancia o igualdad de densidad.

Por otro lado, podría ser empleado, tal como lo hiciera González (2008), para cálculos en la modelación del empaquetamiento de granos que involucren el peso hectolítrico.

En cuanto al Factor forma-densidad (Ffd), refiere el peso a dos de las tres dimensiones espaciales de los granos (largo y ancho del grano). Esta variable mostró correlaciones significativas y con altos coeficientes de correlación con todas las variables de tamaño para ambos cultivares (tabla 4, pág. 54). Esta medida ha sido propuesta por Giura y Saulescu (1996) y describe las diferencias en la estructura del grano (densidad) y la desviación a la forma de un cilindro. Por otro lado, los autores afirman que esta medida expresa la variación en el peso de los granos no considerada por diferencias ni en la longitud y ni en el ancho del grano. Estas expresiones son un tanto confusas ya que, por un lado no diferencian entre estructura y densidad y, por otro, ni el cilindro mencionado (ni el de ningún cuerpo geométrico de tres dimensiones)

es identificable en la ecuación de cálculo (Materiales y Métodos). En este sentido, la segunda afirmación parece, según se entiende, más ajustada a la ecuación propuesta ya que atribuye las variaciones obtenidas a factores ajenos al plano formado por el ancho y el largo de los granos. Estos factores serían los correspondientes a una tercera dimensión y/o cambios en la densidad real del empaquetamiento de los gránulos de almidón.

Tanto Giura y Saulescu (1996) como otros (7, 10) incluyeron al Ffd en sus investigaciones de información genética, sin llegar ninguno de ellos a otorgarle un valor particular.

Dholakia *et al.* (2003) han identificado que, de los seis QTL para el Ffd, cinco son compartidos con los del largo o con el peso o con el ancho de los granos, sin avanzar en su trabajo en un análisis crítico de esta variable.

Gegas *et al.* (2010), por su lado, lo incluyen sólo en uno de los dos conjuntos de datos analizados y, al igual que lo encontrado aquí, aparece asociado a variables de tamaño de granos.

En vistas de estos resultados confluentes y ya que el concepto de densidad es contrario a la dependencia encontrada con el tamaño, se evaluó la incorporación en el denominador del alto de los granos (multiplicando al ancho y largo). Esta nueva variable (Ffdm) presentó un reducido número de correlaciones significativas con las variables primarias de tamaño y con coeficientes de valores relativamente bajos (tabla 4, pág. 54). Esta variable, al ser analizada con un ANOVA, mostró efectos significativos de cultivar y de año, y logró una débil diferenciación de los cultivares con la prueba de contrastes (tabla 3, pág. 51). Esto supone un avance en cuanto a la capacidad descriptora de

la densidad, aunque se aleja de evaluar a la misma, ya que el numerador empleado es el volumen del poliedro que contiene al grano (definido por el máximo ancho, largo y alto del grano) y no está corregido por el desvío a esa forma tridimensional, por lo que sigue estimando una densidad aparente.

CONCLUSIONES

Este trabajo contribuye al conocimiento y a la disponibilidad de variables de forma y tamaño para la caracterización de los granos y embriones de trigo, variables plausibles de ser utilizadas en actividades tanto académicas como de mejoramiento, industriales, siembra, y otras de interés económico. Aporta también al conocimiento básico de las relaciones de tamaño y forma entre el embrión y el grano; en particular evidenció que la forma de los embriones puede ser variable dentro de un cultivar y que el largo y ancho de los embriones son dos medidas de tamaño no equivalentes entre sí.

Se destacan los siguientes logros:

1) Haber definido mediante el Análisis de Componentes Principales los conjuntos de variables con mayor aptitud para describir ya sea la forma o el tamaño de granos y de embriones.

2) La identificación de variables de naturaleza mixta por su asociación tanto con el tamaño como con la forma (largo de embriones) o dudosa por agruparse con variables disociadas a su concepto (Factor forma-densidad con variables de tamaño).

3) La construcción de una variable (Desf AN) que, a diferencia de otras variables existentes como la Esfericidad, evaluó la forma de los granos de los cultivares independientemente del tamaño de los mismos y del año de producción.

4) Una modificación de la variable Factor forma-densidad que logra reducir la cantidad de correlaciones significativas con las variables del tamaño de grano.

5) Confirmación de la dependencia de la relación entre el tamaño del embrión-tamaño del grano con el cultivar, y la propuesta de su evaluación mediante la variable Largo relativo (Le/Lg).

BIBLIOGRAFÍA

1. Aparicio, N.; Villegas, D.; Araus, J. L.; Blanco, R.; Royo, C. 2002. Seedling development and biomass as affected by seed size and morphology in durum wheat. *Journal of Agricultural Science*. 139: 143-150.
2. Bergman, C. J.; Gualberto, D. G.; Campbell, K. G.; Sorrells, M. E.; Finney, P. L. 2000. Kernel morphology variation in a population derived from a soft by hard wheat cross and associations with end-use quality traits. USDA Agricultural Research Service-Lincoln, Publications from USDA-ARS/UNL Faculty, Nebraska. 23: 391-406.
3. Botwright, T. L.; Condon, A. G.; Rebetzke, G. J.; Richards, R. A. 2002. Field evaluation of early vigour for genetic improvement of grain yield in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*. 53: 1137-1145.
4. Bredemeier, Ch.; Mundstock, C. M.; Buttenbender, D. 2001. Efeito do tamanho das sementes de trigo no desenvolvimento inicial das plantas e no rendimento de grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 36:1061-1068
5. Breseghello, F.; Sorrells, M. E. 2007. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping population. *Field Crops Research*. 101: 172-179.
6. Campbell, G. M.; Fang, C.; Muhamad, I. I. 2007. On Predicting roller milling performance VI Effect of kernel hardness and shape on the particle size distribution from first break milling of wheat. *Food and Bioproducts Processing*. 85: 7-23.
7. Dholakia, B. B.; Ammiraju, J. S. S.; Singh, H.; Lagu, M. D.; Röder, M. S.; Rao, V. S.; Dhaliwal, H. S.; Ranjekar, P. K.; Gupta, V. S. 2003. Molecular marker analysis of kernel size and shape in bread wheat. *Plant Breeding*. 122: 392-395.
8. Dziki, D.; Laskowski, J. 2004. Influence of Kernel size on grinding process of wheat at respective grinding stages. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 13/54 (1): 29-33.
9. Fuller, D. Q. 2007. Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archaeobotanical insights from the Old World. *Annals of Botany*. 100: 903-924.
10. Gegas, V. C.; Nazari, A.; Griffiths, S.; Simmonds, J.; Fish, L.; Orford, S.; Sayers, L.; Doonan, J.; Snape, J. 2010. A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *The Plant Cell*. 22: 1046-1056.
11. Giura, A.; Saulescu, N. N. 1996. Chromosomal location of genes controlling grain size in a large grained selection of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 89: 77-80.
12. González, H. 2008. Efecto de la forma y el tamaño del grano de trigo sobre el peso hectolítrico. Tesis de posgrado en Magister Scientiae en Ciencias Agrarias, Programa de Posgrado en Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias Agrarias UN Mar del Plata. Buenos Aires. Argentina. 46 p.
13. Kovach, M. J.; Sweeney, M. T.; McCouch, S. R. 2007. New insights into the history of rice domestication. *Trends in Genetics*. 23: 578-587.
14. Liu, Z. H.; Wang, H. Y.; Wang, X. E.; Zhang, G. P.; Chen, P. D.; Liu, D. J. 2006. Genotypic and spike positional difference in grain phytase activity, phytate, inorganic phosphorus, iron, and zinc contents in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Cereal Science*. 44: 212-219.
15. López-Castañeda, C.; Richards, R. A.; Farquhar, G. D.; Willamson, R. E. 1996. Seed and seedlings characteristics contributing to variation in early vigor among temperate cereals. *Crop Science*. 36: 1257-1266.
16. McDonald M. Standardization of seed vigor test. In "Seeds: Trade, Production and Technology" pag 200-208. Consultado en agosto 2014, disponible en: <http://seedbiology.osu.edu/PUC/pdf%20files/30-Standardization%20of%20Seed%20Vigour%20Tests.pdf>

17. Miralles, D. J.; Slafer, G. A. 1996. Grain weight reductions in wheat associated with semidwarfism: an analysis of grain weight at different positions within the spike of near isogenic lines. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 177:9-16
18. Mohsen, M. N.; Babaeian, M.; Tavassoli, A. 2011. Effect of seed and embryo size on early growth of wheat genotypes. *African Journal of Microbiology Research*. 5: 4859-4865.
19. Mohsen, M. N.; Babaeian, M.; Tavassoli, A. 2012. Effects of seed position on the parental plant on seed weight and nutrient content of wheat (*Triticum aestivum*) grain in different genotypes. *Annals of Biological Research*. 3: 534-542.
20. Osborne, B. G.; Anderssen, R. S. 2003. Single-kernel characterization principles and applications. *Cereal Chemistry*. 80: 613-622.
21. Sharma, D. L.; D'Antuono, M. F.; Anderson, W. K. 2006. Small grain screenings in wheat- using the grain size distribution for predicting cultivar responses. *Australian Journal of Agricultural Research*. 57:771-779.
22. Tsilo, T. J.; Hareland, G. A.; Simsek, A.; Chao, S.; Anderson, J. A. 2010. Genome mapping of kernel characteristics in hard red spring wheat breeding lines. *Theoretical and Applied Genetics*. 121: 717-730.
23. Yücel, C.; Baloch, F.S.; Özkan, H. 2009. Genetic analysis of some physical properties of bread wheat grain (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Turkish Journal of Agriculture & Forestry*. 33: 1-11.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Laura Lázaro por aportar semillas de sus ensayos de la Red de evaluación de cultivares de trigo pan con alta tecnología (RET AT) realizados en la Chacra experimental de la FAA en conjunto con el INTA.

Al Dr. Marcelo Gandini por su asesoría en el análisis de imágenes y en la lectura crítica del manuscrito. Al Ing. Daniel Cogliatti por sus observaciones al manuscrito.

A la Facultad de Agronomía y a la UNCPBA por aportar el equipamiento, instalaciones y otros recursos que posibilitaron el presente trabajo.